

UNIVERSIDAD TECNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERIA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

“REPRODUCCION DEL HONGO *Trichoderma harzianum*
(BIOFUNGICIDA) APROVECHANDO DESECHOS
AGROINDUSTRIALES (RESIDUOS DE PAPA, TAMO DE FREJOL,
BAGAZO DE CAÑA).”

Tesis previa a la obtención del Título de
Ingeniero Agroindustrial

AUTOR
Maritza Angeles Endara Borja

DIRECTOR
Ing. Franklin Hernández

Ibarra – Ecuador
2009

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

PRESENTACION

Este proyecto de tesis tiene como finalidad contribuir al mejoramiento agrícola y ambiental mediante el aprovechamiento de desechos agroindustriales en la reproducción del hongo *Trichoderma harzianum*, el cual se caracteriza por sus propiedades enzimáticas y antibióticas en el control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos.

La utilización de este hongo contribuye en gran medida en la agricultura orgánica ya que permite una disminución del uso de agroquímicos para el control de enfermedades causadas por hongos como el *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium*.

El desarrollo de este proyecto aporta de una manera significativa al mejoramiento de los cultivos y al desarrollo de nuevas técnicas de aprovechamiento de desechos orgánicos y de esta manera evitar la acumulación de estos en las ciudades.

DEDICATORIA

Al culminar una etapa mas de mi vida estudiantil dedico a mi Madre todo el esfuerzo reflejado en este trabajo ya que sin su apoyo constante y su amor, no hubiese podido alcanzar mi meta. Gracias mamá por todo el esfuerzo que has realizado para salir adelante.

A mi abuelita que desde el cielo me brinda todo su apoyo y sus bendiciones. Y a mi pequeño Gabrielito que con su llegada me a impulsado a esforzarme cada día mas y a tener valor para superar los obstáculos.

AGRADECIMIENTO

Mi eterna gratitud a mis distinguidos maestros por su noble labor en beneficio de los educandos universitarios, incentivando nuestro espíritu de lucha y progreso, y su entrega desinteresada en pro de un país mejor.

En especial a los Ingenieros Franklin Hernández, Ing. Jhenny Quiroz, Dra. Lucia Yépez e Ing. Luís Sandoval por su incondicional colaboración y su invaluable aporte en el desarrollo de la presente tesis. Mil gracias.

INDICE GENERAL

Carátula	
Presentación.....	I
Dedicatoria.....	II
Agradecimiento.....	III
Índice de contenidos.....	IV

CAPITULO I

1.1 INTRODUCCION _____	9
1.2 OBJETIVOS _____	11
1.2.1 General _____	11
1.2.2 Específicos _____	11
1.3 HIPOTESIS _____	11

CAPITULO II

2. REVISION DE LITERATURA _____	13
2.1 Agricultura orgánica _____	13
2.1.1 Principios _____	14
2.2 Biofungicidas _____	15
2.3 Biocontrol _____	16
2.4 Hongos antagonistas _____	17
2.4.1 Trichoderma spp _____	18
2.5 Papa _____	31
2.5.1 Usos de las patatas: _____	31
2.5.2 Valor medicinal: _____	32
2.5.3 Valor nutricional _____	32
2.6 Caña _____	33
2.6.1 Aprovechamiento _____	35
2.6.3 Producción de caña de azúcar _____	35
2.7 Fréjol _____	36
2.7.1 Superficie cosechada _____	37
2.7.2 Variedades _____	39

CAPITULO III

3	MATERIALES Y METODOS	42
3.1	Características del área de estudio	42
3.2	Materiales	42
3.2.1	Laboratorio	42
3.2.2	Reactivos	42
3.2.3	Materia Prima	42
3.2.4	Material de oficina	43
3.3	Métodos	43
3.3.1	Factores en estudio	43
3.3.2	Interacción A x B	43
3.3.3	Diseño Experimental	44
3.3.4	Características del experimento	44
3.3.5	Análisis Estadístico	45
3.3.6	Variables a Evaluarse	46
3.4	Manejo Específico del Experimento	46
3.4.1	Obtención de materia prima	48
3.4.2	Selección	48
3.4.3	Pesado	48
3.4.4	Trituración	48
3.4.5	Mezclado	48
3.4.6	Llenado	49
3.4.7	Control de humedad	50
3.4.8	Control de pH	50
3.4.9	Esterilización del sustrato	50
3.4.10	Inoculación de la cepa	51
3.4.11	Incubación	53
3.4.12	Lavado	53

CAPITULO IV

4	RESULTADOS	55
4.1	Porcentaje de rendimiento del hongo	55
4.2	Curva de crecimiento	56
4.3	Recuento de Unidades Formadoras de Mohos por gramo (UFM/ g)	56
4.4	Efectividad del hongo como fungicida	72

CAPITULO V

CONCLUSIONES	76
RECOMENDACIONES	78
SUMMARY	81
BIBLIOGRAFIA	83
ANEXOS	86

CAPITULO

I

1.1 INTRODUCCION

Hoy en día uno de los problemas que enfrentamos los seres humanos es la contaminación de los alimentos por la presencia de sustancias tóxicas, debido al uso indiscriminado de productos sello rojo para evitar la presencia de microorganismos que afectan el crecimiento de los cultivos, la industria agrícola utiliza fungicidas o pesticidas químicos. La inadecuada utilización de estos productos ha ocasionado el desequilibrio biológico y el debilitamiento de los suelos cada día más y por tal motivo para lograr buenas cosechas ha sido necesario el incremento de agroquímicos para controlar las plagas y mejorar la producción.

La presencia de estos productos tanto en el suelo como en agua de ríos o acequias con los cuales son regados los cultivos, o en el peor de los casos se utiliza esta agua para consumo humano sin previa purificación, ha ocasionado que los seres humanos al consumir alimentos que contengan residuos de estas sustancias tóxicas debiliten de manera progresiva su organismo, siendo cada vez más evidente el desarrollo de nuevas enfermedades que en algunos casos pueden ocasionar la muerte.

Actualmente otro de los grandes problemas es la acumulación de los desechos orgánicos sean estos de origen domestico o industrial, ocasionando un grave daño al medio ambiente ya que se estima que al día se producen cientos de toneladas de estos residuos.

En la mayoría de los casos estos residuos van a parar a los botaderos de basura o a los rellenos sanitarios y son mínimas las cantidades que se reciclan. El tratamiento y aprovechamiento de derivados agroindustriales y la formulación de nuevos productos es una manera de incidir en el mejoramiento ambiental, así como la posibilidad de ofrecer productos saludables y limpios aptos para el consumo humano. Por este motivo es que en la actualidad se esta dando gran importancia a

la agricultura orgánica que no es mas que producir alimentos sin el uso de productos tóxicos, sino mediante la implementación de productos naturales que permitan el control de plagas y la fertilización del suelo, para obtener mejores productos y mejorar la producción.

La utilización de desechos agroindustriales como el tamo de fréjol, el bagazo de caña y residuos de papa, como sustrato para la reproducción de un hongo antagonista como es el *Trichoderma harzianum* en la elaboración de un biofungicida, es una alternativa viable para dar valor agregado a estos residuos de la industria, además de ser un valioso producto para mejorar la calidad de los alimentos que consumimos hoy en día, ya que puede ser utilizado en una gran diversidad de cultivos en la prevención de daños provocados por plagas fúngicas entre ellas las ocasionada por el hongo *Botritis*.

La utilización del *Trichoderma* resulta una herramienta importante, de bajo costo y de alta eficacia para el control biológico de patógenos de plantas.

El interés actual en este género proviene esencialmente de sus propiedades enzimáticas y antibióticas; las facultades de antagonismo de *Trichoderma* han sido descritas desde el siglo pasado por Vuillemin en 1887 (Rifai, 1969) y actualmente este hongo es, entre los microorganismos utilizados en el control biológico, uno de los casos raros de resultados consistentes en el combate de hongos patógenos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General

- Reproducir el hongo *Trichoderma harzianum* (biofungicida) aprovechando desechos agroindustriales (residuos de papa, tamo de fréjol, bagazo de caña).

1.2.2 Específicos

- Determinar el mejor tipo de sustrato para la reproducción del hongo *Trichoderma harzianum* (residuos de papa, tamo de fréjol, bagazo de caña).
- Determinar la temperatura óptima para el desarrollo de este hongo (ambiente, 25°C, 30°C).
- Construir curvas de crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en los diferentes sustratos.
- Determinar el porcentaje de rendimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en cada sustratos.
- Realizar una prueba de efectividad del hongo en el laboratorio.

1.3 HIPOTESIS

- El hongo *Trichoderma harzianum* si se reproduce en residuos de papa.
- El hongo *Trichoderma harzianum* si se reproduce en tamo de fréjol.
- El hongo *Trichoderma harzianum* si se reproduce en bagazo de caña.

CAPITULO

II

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Agricultura orgánica

Los métodos agrícolas modernos trajeron aparejados aumentos significativos en la productividad: mayor cantidad de cereales y de animales por hectárea, más carne y leche por animal, más producción de alimentos por persona empleada. Se pueden producir grandes cantidades de alimentos si se poseen insumos, conocimientos y habilidad. Sin embargo, la mayoría de los agricultores de los países en vías de desarrollo son pobres y están marginados de los mercados de insumos y productos, y aproximadamente 790 millones de personas aún siguen padeciendo hambre. Como consecuencia, surge un cuestionamiento importante acerca de hasta qué punto los agricultores pueden mejorar la producción doméstica de alimentos por medio de tecnologías e insumos baratos, de bajo costo y que estén disponibles localmente. Otro tema adicional es hasta qué punto lo pueden llevar a cabo con métodos que no empeoren el daño ambiental ya causado por la agricultura. BENZING, A. (2001) .

En oposición a los sistemas modernos, la agricultura orgánica representa un intento conciente de obtener el mejor uso de los recursos naturales locales. El objetivo de la agricultura orgánica, también conocida como agricultura ecológica o biológica, es crear sistemas agrícolas viables tanto ambientales como económicamente, que dependan de recursos renovables locales o derivados de las granjas, e incluyan el manejo de los procesos ecológicos y biológicos. La utilización de insumos externos, sean inorgánicos u orgánicos, se reduce tanto como sea posible. En los últimos años se ha observado un drástico aumento en cuanto a la adopción de la agricultura orgánica por parte de los países industrializados.

Para la mayoría de los agricultores, lo más importante es que representa un sistema agrícola más que un simple conjunto de tecnologías. El objetivo fundamental es encontrar diversos métodos para lograr que los alimentos crezcan

en armonía con la naturaleza. El término orgánico «se comprende mejor si se lo piensa no en relación a los insumos usados, sino como el concepto de la granja como un organismo en el que sus partes componentes - los minerales de la tierra, la materia orgánica, los microorganismos, los insectos, las plantas, los animales y los humanos - interactúan para crear un todo coherente y estable». Tomado de <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4137S/y4137s0o.htm>

2.1.1 Principios

La agricultura ecológica se basa en una serie de objetivos y principios, así como en prácticas comunes diseñadas para minimizar el impacto humano en el medio ambiente, mientras se asegura que el sistema agrícola funcione de la forma más natural posible.

Las prácticas agrarias ecológicas usuales incluyen:

- Rotación de cultivos como prerequisite para el uso eficiente de los recursos in situ.
- Límites muy estrictos en el uso de pesticidas y fertilizantes sintéticos, antibióticos para ganado, aditivos y coadyuvantes en alimentos, y otros insumos.
- Prohibición del uso de organismos modificados genéticamente.
- Aprovechamiento de los recursos in situ, tales como el estiércol para la fertilización o alimentos para el ganado producidos en la propia granja.
- Selección de especies vegetales y animales resistentes a enfermedades y adaptadas a las condiciones locales.
- Cría de ganado en zonas al aire libre y espacios abiertos y alimentación ecológica.
- Uso de prácticas apropiadas para la cría de diferentes especies de ganado.

Según http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/what-organic_es

2.2 Biofungicidas

Hacer una revisión de los últimos diez años del mercado de productos biológicos resulta un trabajo fácil. De un total de veinte empresas, quizá sólo dos o tres de ellas fueron creadas antes de 1990, lo cual demuestra por sí mismo que se trata de un sector que marca el paso de las nuevas tendencias.

Como referencia inmediata, se puede recordar que fueron los biofungicidas elaborados con diversas cepas de hongos y/o bacterias los primeros en aparecer para contrarrestar los efectos de las enfermedades del suelo. Actualmente, los biofungicidas siguen ocupando un nicho muy importante, el cual es compartido muy de cerca con las micorrizas y los acondicionadores del suelo.

Prácticamente se puede decir que el mercado de productos biológicos se ha concentrado bastante en atender la problemática de la rizoosfera, con un inventario aproximado de veinte productos que corresponden a un número similar de empresas. En este nicho, existen por lo menos seis cepas de hongos y bacterias, entre las cuales sobresalen el *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* y *Trichoderma*. Según ALVAREZ, H.

Posteriormente, los bioinsecticidas derivados de productos naturales comenzaron también a despuntar debido a la necesidad de complementar las estrategias de manejo integrado, con lo cual, creció aún más el arsenal de productos biológicos. Cabe mencionar que los bioinsecticidas derivados de *Bacillus thuringiensis* (bts) aparecieron en realidad hace un poco más de veinte años, pero la gran mayoría derivaron en productos sintéticos que no entran en la categoría de biológicos. Hoy mismo, los bts están ya en un proceso evolutivo, con aplicaciones que se concentran mayormente en los forestales y cultivos de hortalizas. Dentro de este mercado, los bts se complementan con un buen número de insecticidas naturales como los derivados del neem, el ajo, la jojoba o las semillas de toronja.

Otros productos que han emergido rápidamente en el sector de biológicos son los hormonales, activadores fisiológicos, las algas (como correctores y activadores) e

inclusive algunos más novedosos como los hidrogeles. Estos tipos de productos ofrecen múltiples opciones, aunque en su mayoría refuerzan la actividad de la raíz y sirven como potencializadores de la nutrición. Sin ser balas mágicas, algunos de ellos han logrado un cierto grado de reconocimiento entre los horticultores.

Por el contrario, uno de los sectores menos atendidos ha sido, sin duda, la formulación de fertilizantes biológicos, los cuales difícilmente pueden mantenerse estables en un medio líquido. Algunos empresarios argumentan que al incrementarse el uso de sistemas de goteo, los fertilizantes biológicos tendrían que integrar una tecnología más avanzada para poder acceder al mercado. Según <http://www.phcmexico.com.mx/phcevolucion.html>

2.3 Biocontrol

El biocontrol actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades en este sentido como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular.

En Cuba a partir de 1990 se efectuaron diversos estudios dirigidos al biocontrol de hongos del suelo patógenos al tabaco, hortalizas y otros cultivos con aislamientos de *Trichoderma* que fueron seleccionados "*in vitro*" por su elevada capacidad hiperparásita y posteriormente utilizados en forma de biopreparados para combatir *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y otros fitopatógenos en condiciones de campo. STEFANOVA M. (1995)

En diferentes trabajos reportados en la literatura, *Trichoderma* ha demostrado tener la habilidad de controlar diferentes enfermedades de plantas provocadas por

hongos; sin embargo, para conseguir resultados consistentes, se deben de cumplir al menos tres requisitos:

1) Se debe contar con una cepa de *Trichoderma* activa y con agresividad suficiente contra los organismos que se desea controlar; así como presentar una persistencia suficiente en el medio en que deba operar.

2) El método de aplicación debe ser el adecuado para cada caso de plantas y de patógeno a controlar, cuando el patógeno se encuentra en la raíz, la aplicación en la superficie puede ser lenta en presentar resultados a diferencia de una aplicación directa a la zona afectada. En el caso de las enfermedades de la parte aérea de la planta, el tratamiento debe de hacerse en forma preventiva de preferencia, ya que para que el hongo exprese su poder de control se requiere un mínimo de tiempo para que las esporas germinen e inicien su crecimiento.

3) Es deseable que en los suelos en que se utilice *Trichoderma* exista una cantidad mínima de materia orgánica. En suelos desprovistos de ella el establecimiento de *Trichoderma* es más lento y de menor eficiencia. Resulta pertinente mencionar que no existen restricciones para el uso de *Trichoderma* debido a que no hay evidencias de efectos de tipo tóxico en plantas, animales y humanos, por lo tanto su uso está exento de restricciones de residualidad.

2.4 Hongos antagonistas

En la naturaleza los microorganismos no viven aislados unos de otros, si no que se encuentran en distintas relaciones de tipo simbiótico o antagonista. Desde los trabajos pioneros en 1932 de Wending, *Trichoderma* spp. Ha sido el agente de biocontrol más extensamente estudiado (Freenman, 1981). El control biológico se puede definir como la acción de los parásitos predadores y patógenos para mantener la densidad de otro organismo en valor más bajo que el que se podría presentar en su ausencia. ROUSSO, S. (1989)

2.4.1 *Trichoderma* spp

Este hongo fue descrito por primera vez hace 200 años por los micólogos como un gasteromiceto y solo un siglo después se realizó el análisis de su estructura y características para ser clasificado como género entre los hongos filamentosos, con propiedades y actividades biológicas cada vez más usadas en la agricultura actual. Su habilidad como antagonista solo fue descubierta hace 50 años y gran cantidad de artículos técnicos se han escrito describiendo sus bondades en el manejo biológico de los cultivos agrícolas.

El género *Trichoderma* esta en el ambiente y especialmente en el suelo. Se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas. Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella esta clasificado en el grupo de hongos hipógeos, lignolícolas y depredadores. Es aeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido.

La clasificación taxonómica actual lo ubica dentro del Reino de las plantas, División Mycota, Sub división Eumycota, Clase Deuteromycetes, Orden Moniliales, Familia Moniliaceae, Género *Trichoderma* con 27 especies conocidas como: *T. harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. polysporum* Link fr, *T. reesei* EG Simmons, *T. virens*, *T. longibrachatum* Rifai, *T. parceromosum*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. lignorum* y *T. citroviride*.

Su fase perfecta (estado Telomorfo) lo ubica en la Clase Ascomycetes, Serie Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género Hypocrea. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium*.

Morfológicamente, es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidioforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo

condiciones adversas. Es saprofito del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido. STEFANOVA, M., SANDOVAL, I. (1995)

La alta presencia de humedad y el riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos *Trichoderma*, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose óptimamente hasta en un 60 % de plena capacidad del suelo de retención de humedad. A porcentajes mayores de saturación se disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno. Es favorecido por condiciones de pH ácido donde su población se incrementa por una mayor formación de conidioforos, por la germinación de conidias y por menor competencia con microorganismos como actinomicetos y bacterias que se encuentran limitados por la acidez. En suelos con temperatura que oscilan entre los 10 ° y 15° c y baja disponibilidad de nutrientes esenciales no crece y se afecta la actividad benéfica.

El modo de acción de *Trichoderma* esta asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y por el antagonismo con microorganismos patógenos a las plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo y competición, y por su hiperparasitismo.

Trichoderma participa en la biotransformación de celulosa (polímeros de glucosa de alto peso molecular), en la transformación de hemicelulosa (polisacarido que por hidrólisis libera hexosa y pentosa), en la mineralización del Nitrógeno (reacciones hidrolíticas) y de algunas proteínas presentes, en la degradación y en la descomposición de la lignina y el humus que al tener estructuras basadas en núcleos aromáticos son degradados por oxidación de cadenas laterales.

Estos procesos biológicos de digirimiento favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica. Tomado de BUENO, O (2002)

El principal beneficio del *Trichoderma* para la agricultura es el antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir

secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (micoparasitismo), en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos (depredación), en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben hongos basidiomicetos (amensalismo), en la colonización directa del hongo por penetración hifal (predación), en la competencia por oxígeno, nutrientes y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido crecimiento.

Diferentes especies de *Trichoderma* tienen la capacidad antagonista contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. *dianthii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotricum gloesporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Rosellinia bunodes*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora Cactorum* con *Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea* con *T. virens*, *Rosellinia bunodes* con *T. pseudokoningii*, *Armillaria mellea* con *T. viride*, *Phytium* sp. y *Phytophthora* sp con *T. hamatum*, *Cryptonectria parasitica* con *T. parceromosum*.

Diversos trabajos al nivel de laboratorio y corroborados con pruebas de eficacia en cultivos agrícolas, definieron que la mejor dosis de *Trichoderma* como bio-regulador de fitopatógenos en el suelo es una dosis de 1×10^6 UFC por metro cuadrado de suelo. Según <http://productos-plantisana.com/Trichoderma.aspx>

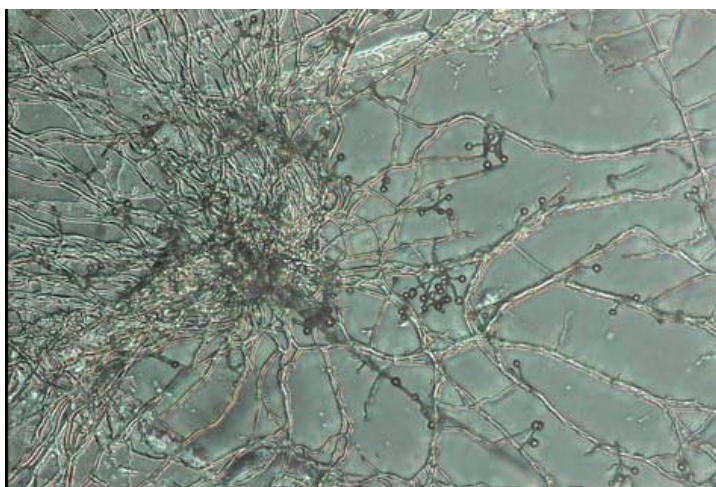
Resultados de campo demuestran un incremento en la actividad de las especies de *Trichoderma harzianum* como micoparásito, cuando se inoculan en la semilla disminuyendo la población de *Rhizoctonia solani*, *Sarocladium* sp y *Phytium* sp en el suelo. También se comprobó que la aplicación sobre el suelo en pre siembra, siembra y post-emergencia temprana, logra disminuir la incidencia de las enfermedades en el cultivo en mas del 60% y además demora la aparición de los síntomas de los patógenos en la planta.

Cuando se aplica *Trichoderma* en campo se deben tener en cuenta varios aspectos importantes que permitan su adecuada expresión, que se relacionan con la interacción planta hospedante – fitopatógeno susceptible – ambiente favorable

(Temperatura del suelo, humedad, presencia de oxígeno, pH), Condiciones del suelo (estructura, contenido de materia orgánica y nutrientes) y tiempo.

La producción y comercialización de productos comerciales a base de *Trichoderma* para uso en agricultura es muy importante en la actualidad. Hay que tener en cuenta varios aspectos muy importantes para obtener la eficacia que necesita el agricultor para un excelente resultado de campo: la procedencia del producto, la experiencia y confiabilidad de la empresa que lo produce, el respaldo técnico, la fecha de vencimiento, la presentación y las características específicas del producto como especie de *Trichoderma*, concentración, viabilidad, especificidad, dosificación y forma de aplicación, que garanticen su eficacia y efectividad.

2.4.1.1 *Trichoderma harzianum*



***Trichoderma harzianum* (hifas y conidioforos)**

Es un hongo antagonista de patógenos vegetales, y se encuentra presente en la mayoría de los suelos. Su crecimiento se ve favorecido por la presencia de raíces de plantas, a las cuales coloniza rápidamente. Algunas cepas, son capaces de colonizar y crecer en las raíces a medida que éstas se desarrollan. Su aplicación, una vez formulado el producto, es fácil, pues puede añadirse directamente a las semillas o al suelo, semilleros, trasplantes, bandejas y plantas de maceta, empleando cualquier método convencional. *Trichoderma harzianum* tiene

excelentes propiedades para el control biológico, siendo especialmente efectiva contra *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium*. A su vez, es un excelente estimulador del crecimiento radicular. Tomado de ALVAREZ, H.

Trichoderma es un hongo que crece relativamente rápido, con un micelio aéreo ligeramente algodonoso, que desprende un ligero olor a coco. La reproducción se logra a través de abundante formación de conidias de color verde opaca y ocasionalmente blancas.

Este hongo crece y se ramifica en típicas hifas que pueden oscilar entre 3 a 12 μm de diámetro, según las condiciones del sitio en donde se esté reproduciendo. La esporulación asexual ocurre en conidias unicelulares de color verde generalmente tienen 3 a 6 μm de diámetro. Como mecanismo de acción el Trichoderma al ser aplicado a las raíces, forma una capa protectora, haciendo una simbiosis, el hongo se alimenta de los exudados de las raíces y las raíces son protegidas por el hongo y al mismo tiempo reduce o elimina las fuentes de alimento del patógeno.

El Trichoderma actúa como una barrera para prevenir la entrada de patógenos a las raíces. Tienen una acción de hiperparasitismo, que es la acción del microorganismo que parasita a otro organismo de su misma naturaleza, es decir, lo utiliza como alimento y los destruye. Compite por espacio y nutrientes con los hongos patógenos. Existen varias formas de aplicación pero se recomiendan las siguientes: En vivero, al transplante, en cultivos establecidos y aplicaciones foliares. Según STEFANOVA M., LEIVA A., LARRINAGA L. CORONADO M. F. (1999)

Algunas de las ventajas que brinda el uso de Trichoderma son las siguientes: Protección a la planta, las plantas producen sistemas radiculares más grandes, no es nocivo para el operario ni para el medio ambiente, no deteriora la fauna benéfica, permite establecer programas de manejo integrado, no tiene efectos tóxicos por acumulación en aplicaciones sucesivas y no tiene límite máximo de residuos. Según VILLEGAS E., (2000)

2.4.1.1.1 Mecanismo de acción

Las plantas disponen de varias vías y mecanismos para resistir el ataque de diversos patógenos. Aunque algunas veces el patógeno supera la propia defensa vegetal, produciendo una infección muy difícil de combatir, es posible aumentar las defensas de la planta frente a dichos agentes patógenos.

El uso de *Trichoderma* sp como agente de biocontrol es preventivo, ya que si aun no ha habido ataque, la planta está preparada y protegida para impedir la infección fúngica, y si ésta se ha producido ya, la acción del hongo *Trichoderma* proporciona a la planta una ayuda fundamental para superar dicha infección. Los mecanismos de biocontrol que utiliza el hongo, fruto de numerosas investigaciones llevadas a cabo con cepas de este género, son las siguientes:

- El micoparasitismo se considera como un atributo de todas las especies de *Trichoderma* sp, y el mejor mecanismo de control biológico de distintas enfermedades fúngicas.
- En el proceso de destrucción de los patógenos por el hongo *Trichoderma*, intervienen una gran cantidad de enzimas que son capaces de segregar sustancias antibióticas.
- El mecanismo de “competencia” que posee *Trichoderma* se considera esencial para la prevención de enfermedades, pues la zona colonizada no podrá ser ocupada por ningún patógeno.
- Es efectivo como tratamiento de semillas, hortícola, extensivos y ornamentales, el hongo *Trichoderma* coloniza las raíces, aumenta la salud y masa radicular, mejora la tolerancia al estrés hídrico, y consecuentemente se obtienen mayores rendimientos, cosa que no se consigue con un fungicida convencional.

- Es efectivo empleado como aditivo a turbas empleadas en semilleros, o aplicada directamente en trasplantes, plantas de maceta invernaderos o cultivos extensivos, limita el ataque de enfermedades de raíz y ofrece protección a largo plazo para los trasplantes en campo.

Se aplica directamente en campo, tanto en hortícolas como en extensivos, en aplicaciones directas al suelo y en pulverizaciones sobre parte vegetativa, pues el hongo *Trichoderma* produce un efecto beneficioso tanto por el sistema radicular, como por la parte aérea de la planta. Con esto se consigue el control de enfermedades como la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo de la fresa.

También se están llevando a cabo ensayos en céspedes de jardines, pues se ha comprobado que a parte de ser una barrera protectora contra patógenos de las raíces, y tener eficacia a la hora de suprimir enfermedades como la *Sclerotinia homeocarpa*, *Pythium* spp y *Rhizoctonia* spp, mejora el estado general del césped. Tomado de STEFANOVA, M, SANDOVAL, I. (1995)

2.4.1.1.2 Formas de actuación.

La forma más común que tiene el *Trichoderma* de parasitar a otros hongos, es el parasitismo directo. Además, *Trichoderma* secreta enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que ayudan a disolver la pared celular de las hifas del huésped, facilitando la inserción de estructuras especializadas y el micelio de *Trichoderma*, absorbiendo los nutrientes del interior del hongo huésped. Al final el micelio del hongo parasitado queda vacío y con perforaciones, provocadas por la inserción de las estructuras especializadas de *Trichoderma*.

Así como ejemplo, se puede explicar el ciclo biológico de *Trichoderma* frente a *Rhizoctonia*, patógeno de raíces de tomate, mediante micoparasitismo en un cultivo. Una vez que *Trichoderma* se ha enrollado alrededor de las hifas del patógeno, libera una batería de enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular

del patógeno. Se puede observar posteriormente, la erosión de la pared celular del patógeno y los hoyos por los cuales, ha penetrado en el interior el hongo Trichoderma. Este proceso permite que Trichoderma penetre dentro del mismo, degradando su contenido citoplasmático, utilizándolo parcialmente o totalmente como nutriente.

El parasitismo directo no es el único método que tiene Trichoderma para parasitar a otros hongos. También produce antibióticos que le permiten inhibir el desarrollo de otros hongos o bacterias, que compiten por nutrientes y espacio. Tomado de http://www.fao-sict.un.hn/practicas/002_produccion_trichoderma.htm

Cuando la cantidad de patógeno es muy grande, las hifas de Trichoderma lo rodean, emitiendo antibióticos que paralizan el crecimiento sobre todo del mismo, posteriormente lo mata por micoparasitismo

Se puede mencionar incluso, que este hongo es capaz de detectar la pared celular del microorganismo patógeno, y emitir un antibiótico específico para este. Sin embargo, para lograr una competencia efectiva, es necesario que Trichoderma colonice el sustrato primero, o al mismo tiempo que el patógeno. La competencia a nivel del sistema radicular se produce por las secreciones de importantes cantidades de nutrientes de las raíces, en activo crecimiento para hongos del suelo. Es decir, este hongo desarrolla lo que se denomina “nicho ecológico”; ocupa el sitio físico, y en el mismo se alimenta, se reproduce, etc., en este mismo sitio, por lo que es muy difícil que otro hongo u otro organismo patógeno, pueda colonizar la misma porción de suelo.

Esta forma de actuación es la que se aplica en semilleros, por lo que en la preparación del sustrato, previa al tren de siembra, se aplica este hongo para conseguir el efecto anteriormente explicado.

También se deben considerar la formación de clamidosporas, que corresponde a hifas (células del hongo) cuyas paredes son más gruesas de lo normal y pueden

actuar como esporas. Las formulaciones comerciales de *Trichoderma* normalmente están hechas a base de esporas y/o clamidosporas, dependiendo de la forma de fabricación.

Pero este hongo tiene también una serie de efectos secundarios en el suelo. Emite vitaminas que absorbe la raíz, con lo que la planta crece más rápido y emite también gran cantidad de enzimas, que hace que la raíz se alimente mejor. Este hongo se alimenta de nitrógeno, fósforo, potasio y microelementos, en caso de que no tenga ningún hongo para alimentarse, y mejora también la estructura del suelo.

Estos efectos secundarios del hongo en suelo y raíces, se producen de forma simultánea con el ataque del hongo al patógeno. Con este hongo se solubilizan también mejor los abonos de la fertirrigación, así como los que se han aplicado en abono de fondo.

2.4.1.1.3 Aplicación en el suelo

La aplicación de este hongo al suelo, es un complemento a las desinfecciones tradicionales, que se suelen realizar en los suelos en enarenados de los invernaderos.

Se puede realizar una desinfección suave, como es la solarización, y posteriormente aplicar el hongo por el riego. No obstante, en muchas ocasiones cuando se realiza una desinfección severa de un suelo, el producto desinfectante no llega a puertas del invernadero, caminos, etc., y el patógeno se refugia en estas zonas. Como se ha matado toda la vida del suelo, este se encuentra en estado virgen, por lo que el patógeno se desarrolla más rápido y con mayor virulencia, que antes de la desinfección.

No se puede aplicar excesivos fungicidas químicos ya que se mata el hongo *Trichoderma*. De todas formas hay que comentar que existen algunos que sólo

matan un tanto por ciento de este hongo, recuperándose posteriormente, si bien hay otros que si lo anulan totalmente. Según ALVAREZ, H.

Se puede realizar una desinfección con productos químicos, pero a las dos semanas se debe aplicar microorganismos beneficiosos, para que estos compitan con los posibles patógenos.

El producto lleva el microorganismo en estado latente; es lo que se conoce como unidad formadora de colonias. Es por esto, que es conveniente que el suelo esté húmedo cuando se aplica el mismo, para que se pueda emitir rápidamente el micelio.

Una gran ventaja de la aplicación de este hongo, es que al ser un tratamiento biológico, no deja ningún residuo en el fruto. Actualmente se puede aplicar este hongo por el riego, o de forma sólida con cierto contenido de materia orgánica.

2.4.1.1.4 Productos comerciales con trichoderma.

Los productos comerciales con este hongo son un biopreparado que contiene microorganismos naturales del suelo en estado latente, que intervienen en el ciclo de biodegradación de materiales orgánicos y minerales, convirtiéndolos en nutrientes asimilables por las plantas.

Se recomienda almacenar este producto en frío a una temperatura comprendida entre 4 y 14 grados centígrados. De todas formas si se mantiene el producto durante 2 o 3 días a temperatura ambiente, no se alteran las propiedades del producto. A una temperatura comprendida dentro del intervalo anterior, se garantiza una caducidad de un año, es decir, a partir del año algunas esporas empiezan a morir. A temperatura ambiente, el producto se conserva bien durante 2 o 3 meses.

Algunos productos comerciales llevan más de una cepa de *Trichoderma*. Al tener varias cepas del hongo, tenemos también un abanico grande de actuación del hongo frente a diversas enfermedades.

La apariencia de un suelo con este hongo, es que la planta está más desarrollada, las raíces están más desarrolladas y con mayor número de pelos absorbentes.

Se debe destacar que los productos comerciales con este hongo no son enraizantes, aunque si mejoran la actividad de las raíces y mejora las propiedades del suelo. Tomado de http://www.iabiotec.com/trichod_ficha.htm

2.4.1.1.5 Ventajas de una aplicación con *Trichoderma harzianum*

- Ofrece un control eficaz de enfermedades de plantas.
- Posee un amplio rango de acción.
- Elevada propagación en el suelo, aumentando sus poblaciones y ejerciendo control duradero en el tiempo sobre hongos fitopatógenos.
- Ayuda a descomponer materia orgánica, haciendo que los nutrientes se conviertan en formas disponibles para la planta, por lo tanto tiene un efecto indirecto en la nutrición del cultivo.
- Estimula el crecimiento de los cultivos porque posee metabolitos que promueven los procesos de desarrollo en las plantas.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagonistas.
- No necesita plazo de seguridad para recolección de la cosecha.
- Preservación del medio ambiente al disminuir el uso de funguicidas.

- Economía en los costos de producción de cultivos.
- Ataca patógenos de la raíz (Pythium, Fusarium, Rhizoctonia) y del follaje (Botritis y Mildew) antes que puedan ser los detectados y evita el ataque de (Phytophthora).
- Previene enfermedades dando protección a la raíz y al follaje.
- Promueve el crecimiento de raíces y pelos absorbentes.
- Mejora la nutrición y la absorción de agua.
- Disminuye o elimina la dependencia de fumigantes químicos.
- No se ha registrado ningún efecto fitotóxico.
- Moviliza nutrientes en el suelo para las plantas.
- Actúa como biodegradante de agrotóxicos.
- Se puede emplear en sustratos de organopónicos y zeopónicos.
- Protege las semillas agrícolas y botánicas de fitopatógenos.
- Es compatible con Micorrizas, Azotobacter y otros biofertilizantes.
- También es compatible con bio agentes controladores de plagas y enfermedades.

2.4.1.1.6 Inconvenientes

El problema que se ha encontrado hasta ahora es que no se ha descubierto ningún fijador, que sea capaz de colocar el hongo *Trichoderma* en la parte aérea de la planta, por lo que se están desarrollando distintas líneas de investigación en este sentido. Es decir, se puede controlar las enfermedades de cuello y raíz, pero no las aéreas.

No obstante, a nivel de laboratorio, el hongo *Trichoderma* es capaz de anular gran cantidad de hongos patógenos aéreos como *Botrytis*. De hecho, si se coloca en un cultivo de laboratorio *Trichoderma* antes que *Botrytis*, este último hongo no es capaz de desarrollarse.

Este hongo no es sistémico, es decir, no entra en ningún momento dentro de la planta. En caso de que la planta esté infectada por algún hongo patógeno, es aconsejable utilizar cualquier fungicida químico, para bajar la población del hongo patógeno, y posteriormente utilizar *Trichoderma*. Entre una plantación y otra, es aconsejable realizar otro tratamiento con el hongo *Trichoderma*. Tomado de <http://productos-plantisana.com/Trichoderma.aspx>

2.4.1.1.7 Forma de empleo del *Trichoderma harzianum*

La forma de empleo es muy simple, pues puede aplicarse con la gran mayoría de productos fitosanitarios y nutricionales del mercado, simplemente disolviendo en agua y aplicando como agua de riego. Es muy efectiva una inoculación directa cuando se trata de plantones.

Es compatible con la mayoría de fungicidas químicos, aunque como norma general no deben aplicarse fungicidas químicos dos semanas anteriores o posteriores a la aplicación de *Trichoderma*.

2.5 Papa



La papa o patata (*Solanum tuberosum*) es una especie perteneciente a la familia de las Solanáceas, originaria de América del Sur y cultivada en todo el mundo por sus tubérculos comestibles. Domesticada en el altiplano andino por sus habitantes hace 7000 años, fue llevada a Europa por los conquistadores españoles más como una curiosidad botánica que como una planta alimenticia. Con el tiempo su consumo fue creciendo y su cultivo se expandió a todo el mundo hasta posicionarse como uno de los principales para el ser humano.

Ésta continúa siendo la base de la alimentación de millones de personas, una delicia culinaria en muchísimas regiones del globo que han creado decenas de platos que la tienen de protagonista y, además, su estudio representa un verdadero desafío para científicos de varias disciplinas quienes tratan de dilucidar su origen, genética y fisiología. Mas aún, adentrados en el campo de la tecnología, encuentran una gran cantidad de aplicaciones no convencionales para este tubérculo, desde los cosméticos hasta el papel prensa. Tomado de <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/patata-patatas-papa-papas.htm>

2.5.1 Usos de las patatas:

Los usos de la papa son múltiples, tanto como producto fresco como industrializado, transformándola en uno de los alimentos más versátiles y generalizados.

Su consumo, después de un proceso de cocción, puede ser como papa asada, cocida, frita, ensalada, puré, sopa, soufflé, chapalele, milcao, etc., dando fe de la variedad de usos.

Aparte de otras formas de industrialización para alimento humano que dan origen a una enorme variedad y cantidad de productos procesados como los congelados, deshidratados, enlatados, licores, etc., la papa también se utiliza para la obtención industrial de almidón, dextrinas, glucosa, y otros productos. Por último, también se utiliza en alimentación animal. Tomado de SUQUILANDA, M. (1996)

2.5.2 Valor medicinal:

- Protectora del hígado y de las funciones de la vesícula biliar.
- Excelente estimulante digestivo, diurético y por tanto muy útil frente a problemas de retención de líquidos.
- Reductora del colesterol y las tasas de grasa en sangre.
- Interesante para los diabéticos gracias a su contenido en insulina, sustancia que limita la concentración de azúcar en sangre tras las comidas.

2.5.3 Valor nutricional

Papa o Patata cruda (con piel)			
Valor nutricional medio por cada 100 g			
Agua		82	g
Valor calórico		70	kcal
Proteínas		2	g
Glúcidos		19	g
Lípidos		0,1	g
Provitamina	A	5	mg
Vitamina	B1	0,11	mg

Vitamina B2	0,04	mg
Vitamina B6	0,25	mg
Vitamina C	19,5	mg
Vitamina PP	1,2	mg
Hierro	1,8	mg
Calcio	9	mg
Magnesio	10	mg
Fósforo	26	mg
Potasio	255	mg
Sodio	2,4	mg
Fibras	1.4	g

Según TERRANOVA Editores (2001)

2.6 Caña



La caña de azúcar es una planta proveniente del sureste asiático. Fue llevada al Mediterráneo por los árabes, donde se cultivaba principalmente en las tierras costeras. Posteriormente los europeos llevaron la planta, primero a las islas Canarias, y luego a América, en muchas de cuyas zonas el clima era más favorable que en la Península Ibérica, por lo que casi se abandonó el cultivo en

ésta. Con el descubrimiento de América se llevó la caña de azúcar a Latinoamérica, donde todavía hoy en día se industrializa y se fabrica azúcar para el consumo mundial, ubicando a países como Brasil, México, Colombia y Venezuela entre los mayores productores de azúcar del mundo.

El jugo de su tronco fue la principal fuente de azúcar. Una vez cosechada la caña, se la lleva a unas cuchillas desmenuzadoras, y luego pasa al trapiche. Este jugo se pasa por una serie de filtros, luego se le hace un tratamiento clarificante y de ahí se lo pone en tachos de cocción en vacío, donde se concentra el jugo, y por último se cristaliza el azúcar del jugo. Luego de cristalizado el azúcar, se le extrae el agua restante quedando así el azúcar blanco común que se conoce habitualmente. Según PORTA, A. (1955)

En las zonas donde se cosecha, también se masca la caña fresca, por su jugo; pero también el jugo dulce se vende en vasos o conos de papel poco después de haber sido extraído empleando una máquina con ese fin.

Diferentes microorganismos asociados a sus raíces pueden fijar el nitrógeno atmosférico, lo que permite su cultivo en muchas zonas sin aporte de abonos nitrogenados. La caña de azúcar común se cultiva a partir de esquejes desde la antigüedad; algunas variedades no producen semillas fértiles.

Aunque se han ensayado con cierto éxito varias máquinas de cortar caña, la mayor parte de la zafra o recolección sigue haciéndose a mano en todo el mundo. El instrumento usado para cortarla suele ser un machete grande de acero con hoja de unos 50 cm de longitud y 13 cm de anchura, un pequeño gancho en la parte posterior y empuñadura de madera. La caña se abate cerca del suelo, se le quitan las hojas con el gancho del machete y se corta por el extremo superior, cerca del último nudo maduro. Las hojas se dejan en el suelo para enriquecerlo de materia orgánica. Según QUEZADA, Walter. (2008)

2.6.1 Aprovechamiento

La caña de azúcar suministra, en primer lugar, sacarosa para azúcar blanco o moreno. También tiene aproximadamente 40 kg/tm de melaza (materia prima para la fabricación del ron. También se pueden sacar unos 150 kg/tm de bagazo. Hay otros aprovechamientos de mucha menor importancia como los compost agrícolas, vinazas, ceras, fibra absorbente, etc.

2.6.2 Superficie sembrada

La superficie sembrada ha mantenido un crecimiento sostenido, es así como en 1990, se sembraron 48.201 Has., pasando a 67.469 Has en 1998, lo que representa un incremento del 40%; igual situación se observó en el área cosechada, a excepción de 1997, que fue afectada por la presencia del Fenómeno de El Niño, en el cual se cosecharon 24.463 Has de caña de azúcar, lo que se tradujo en una reducción de la superficie del orden del 57 % con respecto a 1996. Tomado de Servicio de información agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (2001)

2.6.3 Producción de caña de azúcar

La producción de caña de azúcar en el período de análisis ha tenido un crecimiento constante a excepción de año 1997, que decreció como consecuencia de la presencia del Fenómeno de El Niño en 25% con relación a 1990 y del 43% con respecto a 1996, la producción de caña 1998, fue de 4'986.745 TM., lo que equivale a un crecimiento de alrededor del 47% con respecto a 1990.

La baja producción de caña en 1997, obedeció principalmente a problemas climáticos, que se presentaron dejándose de zafar una área de 42.444 Ha., las mismas que si fueron cosechadas en 1998, año en el cual además los ingenios

azucareros y los cañicultores, realizaron innovaciones tecnológicas, lo que representó adicionalmente un crecimiento de la productividad vía rendimientos.

Otro factor que incidió en el crecimiento de la producción de caña de azúcar en el período de análisis fue la política de liberalización de precios que se aplicó a partir del año 1993, medida que representó un estímulo para los cañicultores, puesto que significaba la obtención de un precio atractivo en relación con sus costos de producción.

2.7 Fréjol



El fréjol especie dicotiledónea, de la familia de las fabaceas cuyo nombre científico es *Phaseolus vulgaris* L. y conocido comúnmente con los nombres de poroto, habichuela, judía, ejote, alubia, o caraota es una de las leguminosas de buen consumo en países latinoamericanos como Cuba, México, Costa Rica, Guatemala, Panamá, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, y muy apetecida en Europa, Estados Unidos y el Japón.

Gracias a la gran adaptabilidad que posee el Fréjol a todo tipo de suelo, ha constituido sin lugar a dudas que esta gramínea haya trascendido de tal manera en el planeta, tanto así que según la FAO ocupa el octavo lugar entre las leguminosas sembradas en el planeta, y por ende una de las de mayor consumo no solo por su rico sabor, sino por el grado de nutrientes proteicos y calóricos con los que aporta

en la dieta diaria humana y a bajo costo si los comparamos con las fuentes de origen animal y que por los niveles de pobreza en que se desenvuelve la mayoría de la población mundial no tienen acceso a los mismos. Tomado de Ministerio de agricultura y Ganadería (2001)

2.7.1 Superficie cosechada

Según el III Censo Agropecuario en el Ecuador actualmente se cosechan 89.789 hectáreas de las 105.127 has. Sembradas de esta leguminosa en grano seco y 15.241has. en verde o tierno de las 16.464 has. Sembradas, las que proporcionan 18.050 toneladas métricas, y 8.448 toneladas métricas respectivamente, cuyo consumo se efectúa tanto en fresco (grano seco y verde), como para la industria de enlatados.

El cultivo de Fréjol constituye actualmente el 0,84% del total de superficie arable en el Ecuador según el Tercer Censo Nacional Agropecuario, de las que se logran rendimientos en promedio del orden de las 0,20 TM/ha en lo que a grano seco se refiere, mientras que en verde los rendimientos alcanzan las 0,62 TM/ha.

La superficie cosechada para el año 2000 de fréjol seco estuvo concentrada mayormente en las provincias de Imbabura con 16.814 has las que representan 18.59% del total nacional, Azuay con 14.811y representan el 16.38%, mientras que la provincia del Carchi posee el 11.22% es decir 10.144 has. Cosechadas del grano, la provincia de Loja con 12.798 Has. Con el 14.15%, constituyen las provincias representativas si se quiere en lo que a este rubro se refiere.

En cuanto a fréjol verde la situación varia sustancialmente pues de las 15.241 has cosechadas para el año 2000 el rubro mas significativo lo lleva la provincia de Chimborazo con un poco mas del 17%, seguida por la provincia del Guayas con el 12.28%, el tercer lugar lo ocupa la provincia de Pichincha con el 10.68%, mientras que las provincias de Imbabura y Carchi posee el 8.23% y el 8.76% respectivamente, y finalmente Azuay con el 7.81% y Loja 7.66% de la superficie cosechada de fréjol tierno o verde en el territorio nacional.

Las zonas productoras de fréjol arbustivo se localizan tanto en valles, como en las estribaciones de la cordillera, a alturas que oscilan entre los 1.000 y 2.500 m.s.n.m. en valles y entre los 800 y 1200 m.s.n.m. en las estribaciones según se describe en el cuadro siguiente:

PROVINCIA	VALLES	ESTRIBACIONES DE CORDILLERA
CARCHI	CHOTA	-----
IMBABURA	CHOTA	INTAG
PICHINCHA	GUAYLLABAMBA TUMBACO	Y NOROCCIDENTE DE PICHINCHA
TUNGURAHUA	PATATE	-----
CHIMBORAZO	-----	PALLATANGA
BOLIVAR	-----	CHILLANES
AZUAY	GUALACEO Y YUNGUILLA	-----
LOJA	VILCABAMBA, CATAMAYO, MALACATOS Y LOJA	-----

Cabe mencionar que las siembras se realizan durante los meses de febrero a abril y septiembre a noviembre en los valles, mientras que para las estribaciones se las realiza en los meses de mayo a julio, por lo que de manera general se puede consumir fréjol durante casi todo el año, como es de suponerse los pico de cosecha están localizados en los meses de junio-julio-agosto es decir cuando salen las siembras de los valles en cuanto a fréjol seco se refiere, mientras que para fréjol verde (tierno o vainita) el pico de cosecha alcanza su máximo en los meses de abril y mayo.

2.7.2 Variedades

Las variedades que actualmente se cultivan en el Ecuador son:

NOMBRE	TIPO DE GRANO
VILCABAMBA	CREMA MOTEADO
YUNGUILLA(tipo cargabello)	ROJO MOTEADO
BLANCO IMBABURA	BLANCO GRANDE
PERCAL BLANCO	BLANCO MEDIANO
COCACHO	AMARILLO MEDIANO
PERÚANO	CREMA ALARGADO
CHABELO	ROJO MOTEADO GRANDE
MANTEQUILLA	CREMA MEDIANO
CARGABELLO	ROJO MOTEADO
IMBABELLO	ROJO MOTEADO
JE.MA.	ROJO MOTEADO

En cuanto al fréjol voluble o trepador, se tiene que este cultivo esta localizado en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Chimborazo, Bolívar y Loja, es decir casi en las mismas provincias en que se obtiene el fréjol arbustivo, con la diferencia de que el Fréjol voluble requiere otras condiciones agronómicas tales como son la altitud (2.000 a 2.900 m.s.n.m.), el tipo de suelo, etc., Entre las variedades de fréjol voluble tenemos al Bolon Bayo, Toa (rojo moteado) y Canario principalmente y como vulgarmente se las conoce; el ciclo de cultivo de esta especie oscila entre 165 y 178 días en verde (tierno) y 180 y 195 días en grano seco, es importante realizar una aclaración ya que el fréjol arbustivo posee

un ciclo que esta dado entre los 80 a 90 días para el grano tierno y entre 110 y 115 días para el grano seco. La época de siembras se extienden desde el mes de septiembre hasta el mes de diciembre, claro esta dependiendo de las condiciones climatológicas y de la zona.

Cabe anotar que existen otras variedades, pero que conforme se han ido realizando mejoras a las que mayormente demanda el mercado, estas han ido desapareciendo de una manera paulatina. Según Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador.

CAPITULO

III

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Características del área de estudio

La parte experimental del estudio del presente proyecto de tesis se realizó en la propiedad ubicada en las calles Maldonado 10 – 22 y Pedro Moncayo en la ciudad de Ibarra, y la parte de laboratorio fue realizada en el Laboratorio de uso Múltiple de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales.

3.2 Materiales

Se utilizaron los siguientes materiales:

3.2.1 Laboratorio

- Autoclaves
- Estufas
- Pipetas
- Material de vidrio
- Cajas Petri
- Microscopio
- Frascos de vidrio con tapa
- Caja de madera

3.2.2 Reactivos

- Agua de dilución estéril
- Medio de cultivo para hongos
- Cepas de *Trichoderma harzianum*

3.2.3 Materia Prima

- Residuos de papa
- Tamo de fréjol
- Bagazo de caña
- Cascarilla de arroz
- Arrocillo

- Arroz

3.2.4 Material de oficina

3.3 Métodos

3.3.1 Factores en estudio

3.3.1.1 Factor A

Tipo de sustrato

- A1 12.5 % arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz 75% de residuos de papa
- A2 12.5 % arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz 75% de tamo de fréjol
- A3 12.5 % arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz 75% de bagazo de caña

3.3.1.2 Factor B

Temperaturas

- B1 temperatura ambiente 18 - 20° C
- B2 temperatura controlada de 25 ° C
- B3 temperatura controlada de 30 ° C

3.3.2 Interacción A x B

Tratamientos	Nomenclatura
T1	A1B1
T2	A1B2
T3	A1B3
T4	A2B1
T5	A2B2
T6	A2B3
T7	A3B1
T8	A3B2
T9	A3B3

3.3.2.1 Composición de tratamientos

Tratamientos	Arrocillo %	Cascarilla de arroz %	Residuos de papa %	Bagazo de caña %	Tamo de fréjol %	Temperatura
T1: A1B1	12.5	12.5	75	0	0	20 ° C
T2: A1B2	12.5	12.5	75	0	0	25 ° C
T3: A1B3	12.5	12.5	75	0	0	30 ° C
T4: A2B1	12.5	12.5	0	75	0	20 ° C
T5: A2B2	12.5	12.5	0	75	0	25 ° C
T6: A2B3	12.5	12.5	0	75	0	30 ° C
T7: A3B1	12.5	12.5	0	0	75	20 ° C
T8: A3B2	12.5	12.5	0	0	75	25 ° C
T9: A3B3	12.5	12.5	0	0	75	30 ° C

3.3.3 Diseño Experimental

En la presente investigación se utilizó el Diseño Completamente al Azar, con 9 tratamientos, 3 repeticiones

3.3.4 Características del experimento

Repeticiones	3
Tratamientos	9
Unidad experimental	27

Cada unidad experimental estuvo conformada por una muestra de 500g de sustrato inoculado con cepas de *Trichoderma harzianum* en un porcentaje del 5% con relación al peso del sustrato.

NOTA: El 5% con relación al peso del sustrato corresponde a arroz inoculado con cepas de *Trichoderma harzianum*.

3.3.5 Análisis Estadístico

3.3.5.1 Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	26
Tratamientos	8
Factor A	2
Factor B	2
AxB	4
Error experimental	18

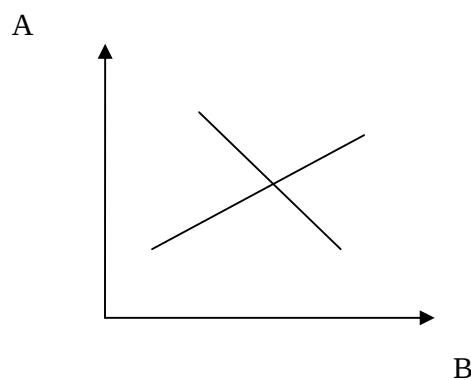
3.3.5.2 Coeficiente de variación (CV) %

Se realizó la prueba de significación estadística de: TUKEY al 5%

3.3.5.3 DMS

La prueba de significación estadística DMS se realizó para factores.

3.3.5.4 Gráfico de la interacción



3.3.6 Variables a Evaluarse

3.3.6.1 Porcentaje de rendimiento del hongo *Trichoderma harzianum*.

El porcentaje de rendimiento del hongo *Trichoderma harzianum* se midió para determinar en que sustrato el hongo se desarrolló mejor, esto analizando la curva de crecimiento del hongo en cada uno de los sustratos y a las diferentes temperaturas.

3.3.6.2 Curva de crecimiento

La curva de crecimiento se realizó para ver el proceso de desarrollo del hongo, para lo cual se efectuó un lavado de cada sustrato con un litro de agua estéril, para luego de realizar las diluciones respectivas efectuar la siembra e incubar las cajas por 72 horas, al cabo de este tiempo se procedió al recuento de mohos, este procedimiento se repitió a los cinco, diez, quince y veinte días de inoculada la cepa.

3.3.6.3 Recuento de Unidades Formadoras de Mohos por gramo (UFM/ g)

Recuento de Unidades Formadoras de de Mohos por gramo (UFM/ g) se realizó con el fin de determinar cual es el mejor tratamiento, que debe tener 2.5×10^9 UFM/ g basados en el parámetro que se utiliza en el Instituto de Investigación Cubano, para esto se efectuó siembras y recuento de mohos en cada tratamiento al día cero, cinco, diez, quince y veinte días.

3.3.6.4 Efectividad del hongo como fungicida.

Se efectuó una prueba en el laboratorio sembrando un hongo patógeno de la especie *Fusarium* junto con el hongo *Trichoderma harzianum*, para comprobar si realmente el *Trichoderma harzianum* es biofungicida y no permite el desarrollo del hongo patógeno.

3.4 Manejo Específico del Experimento

3.4.1 Obtención de materia prima

En el caso de la cascarilla de arroz se compró en los lugares de expendio de alimentos balanceados para pollos, el arrocillo en un supermercado, los residuos de papa fueron adquiridos en el mercado de la ciudad de Ibarra, el tamo de fréjol en el sector del Valle del Chota y el bagazo de caña proveniente de trapiches ubicados en el Valle del Chota.

3.4.2 Selección

Se realizó una selección de la materia prima para eliminar impurezas (piedras, terrones, etc.) que puedan afectar el proceso de desarrollo de la cepa.

3.4.3 Pesado

Para realizar el pesado de los residuos agroindustriales (residuos de papa, tamo de fréjol y bagazo de caña), cascarilla de arroz, y arrocillo se uso una balanza analítica.

3.4.4 Trituración

La materia prima fue sometida a un proceso de trituración para homogenizar el tamaño de las partículas de los residuos agroindustriales con el tamaño de las partículas de la cascarilla de arroz que tienen aproximadamente un diámetro de 5mm, utilizando un molino pequeño llamado OSCAR.

3.4.5 Mezclado

Se procedió a mezclar cada uno de los residuos con la cascarilla de arroz y el arrocillo de la siguiente manera:

T1 - A1B1 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de residuos de papa

T2 - A1B2 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de residuos de papa

T3 - A1B3 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de residuos de papa

T4 – A2B1 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de tamo de fréjol

T5 – A2B2 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de tamo de fréjol

T6 – A2B3 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de tamo de fréjol

T7 – A3B1 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de bagazo de caña

T8 – A3B2 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de bagazo de caña

T9 – A3B3 12.5% de arrocillo 12.5% de cascarilla de arroz con 75% de bagazo de caña

3.4.6 Llenado

El llenado se efectuó en frascos de vidrio de 1000ml y se utilizó un frasco para cada tratamiento



3.4.7 Control de humedad

El control de humedad se realizó a cada uno de los tratamientos antes de esterilizar el sustrato para ver el porcentaje de agua que posee el cual debe ser de aproximadamente el sesenta por ciento, el control se efectuó colocando una muestra del sustrato en la mano y presionando para determinar cuantas gotas caen las mismas que deben ser de cinco a seis. En el caso que el sustrato estaba muy húmedo se secó en estufa y si estaba muy seco se agregó agua estéril.

3.4.8 Control de pH

Para poder inocular la cepa el sustrato debía tener un pH de 4.5, para lo cual se utilizó un potenciómetro, en el caso de que el sustrato no se encuentre en ese rango se utilizó ácido cítrico en una solución al 10% y se agregó cuantos mililitros sean necesarios para que el sustrato llegue a ese pH

3.4.9 Esterilización del sustrato

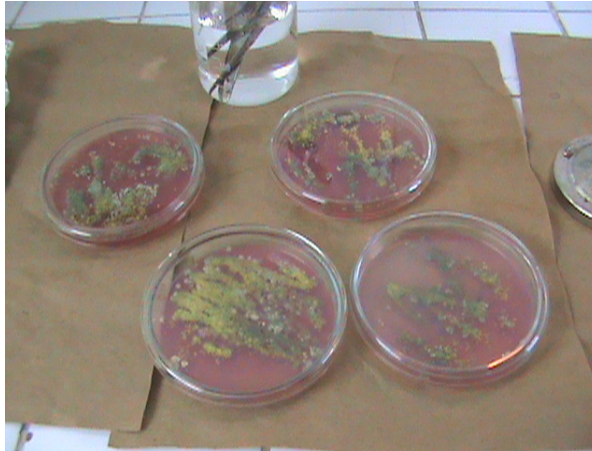
El sustrato se esterilizó para eliminar la posible carga microbiana que poseía, esto se efectuó en autoclaves a 121° C por quince minutos.



3.4.10 Inoculación de la cepa

Para la inoculación de la cepa se realizó los siguientes pasos:

1. Siembra de la cepa madre en cajas petri con Agar Rosa Bengala para su propagación.



2. División del agar con la cepa en pedazos para su reproducción en granos de arroz esterilizados en autoclave a 121°C por quince minutos.



3. Incubación de la cepa de hongos en frascos con granos de arroz esterilizados por quince días.



4. Se realizó una siembra directa del arroz inoculado con cepas del hongo *Trichoderma harzianum* en cada uno de los sustratos a evaluar en un porcentaje fijo del 5% con relación al peso del sustrato



3.4.11 Incubación

La incubación se efectuó a temperatura ambiente (18 - 20° C) y a temperaturas de 25° C y 30° C colocando los frascos dentro de cajas de madera .El tiempo de incubación fue de 20 días.



3.4.12 Lavado

Para realizar el proceso de lavado del sustrato utilizó agua estéril un litro de agua estéril para cada unidad experimental.

CAPITULO

IV

4 RESULTADOS

4.1 Porcentaje de rendimiento del hongo

Para poder determinar el porcentaje de rendimiento del hongo se procedió a realizar una transformación logarítmica de los datos para facilitar los cálculos matemáticos.

El parámetro utilizado es de 2.5×10^9 UFM/ g basados en las normas que utiliza el Instituto de Investigación Cubano, este valor con transformación logarítmica es de 9,398 que representa el 100%

Cuadro #1 Porcentaje de crecimiento de hongo a los veinte días.

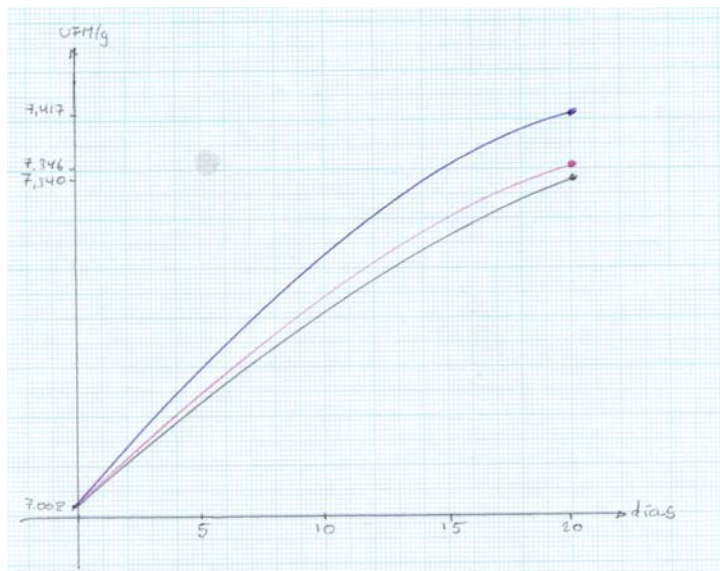
Tratamientos	I	II	II	MEDIA
A1B1	77,033	77,033	77,097	77,055
A1B2	78,421	77,869	76,539	77,610
A1B3	78,060	77,743	78,499	78,101
A2B1	76,516	77,575	77,480	77,190
A2B2	77,887	78,060	77,851	77,933
A2B3	78,060	78,178	78,261	78,166
A3B1	77,441	77,887	77,779	77,702
A3B2	78,026	78,145	78,228	78,133
A3B3	78,622	78,928	79,203	78,918

Luego de realizadas las curvas de crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* para cada uno de los tratamientos y sus respectivas repeticiones y analizando el porcentaje de rendimiento a los veinte días de realizada la siembra se determina que el tratamiento que mejor responde es el A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C.

4.2 Curva de crecimiento

La curva de crecimiento se realizó para ver el proceso de desarrollo del hongo, para lo cual se efectuó un lavado de cada sustrato con un litro de agua estéril, para luego de realizar las diluciones respectivas efectuar la siembra e incubar las cajas por 72 horas, al cabo de este tiempo se procedió al recuento de unidades formadoras de mohos, este procedimiento se repitió a los cinco, diez, quince y veinte días de inoculada la cepa.

Gráfico #1 Curva de crecimiento en los tres sustratos a los 20 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.05UFM/g

Residuos de papa
Tamo de fréjol
Bagazo de caña

Al observar el presente gráfico se puede determinar que el sustrato que mejor crecimiento de hongos tiene es el bagazo de caña, con una curva más sobresaliente en relación a los otros sustratos analizados.

4.3 Recuento de Unidades Formadoras de Mohos por gramo (UFM/ g)

Recuento de Unidades Formadoras de de Mohos por gramo (UFM/ g) se realizó con el fin de determinar cual es el mejor tratamiento, el mejor tratamiento debe

tener 2.5×10^9 UFM/ g basados en el parámetro que se utiliza en el Instituto de Investigación Cubano, para esto se realizó siembras y recuento de mohos en cada tratamiento al primer día de inoculada la cepa y los veinte días.

Cuadro # 2 Recuento total de UFM/g día 5

Tratamientos	I	II	III	Σ Tratamientos	Medias
A1B1	7,093	7,093	7,097	21,284	7,095
A1B2	7,265	7,104	7,097	21,466	7,155
A1B3	7,272	7,144	7,166	21,581	7,194
A2B1	7,043	7,027	7,037	21,107	7,036
A2B2	7,037	7,186	7,076	21,299	7,100
A2B3	7,091	7,126	7,131	21,347	7,116
A3B1	7,064	7,126	7,099	21,289	7,096
A3B2	7,082	7,202	7,104	21,388	7,129
A3B3	7,141	7,161	7,168	21,470	7,157
Σ Repeticiones	64,088	64,169	63,975	192,232	64,077

Cuadro #3 Análisis de varianza

ADEVA

F DE V	GL	SC	CM	FC	0,05	0,01
TOTAL	26	0,102				
TRAT.	8	0,051	0,006	2,236 NS	2,59	3,89
F.A	2	0,019	0,010	3,422 NS	3,63	6,23
F.B	2	0,030	0,015	5,242 *	3,63	6,23
F A X B	4	0,002	0,000	0,141 NS	3,11	5,04
E. EXP.	18	0,051	0,003			

CV= 0,748%

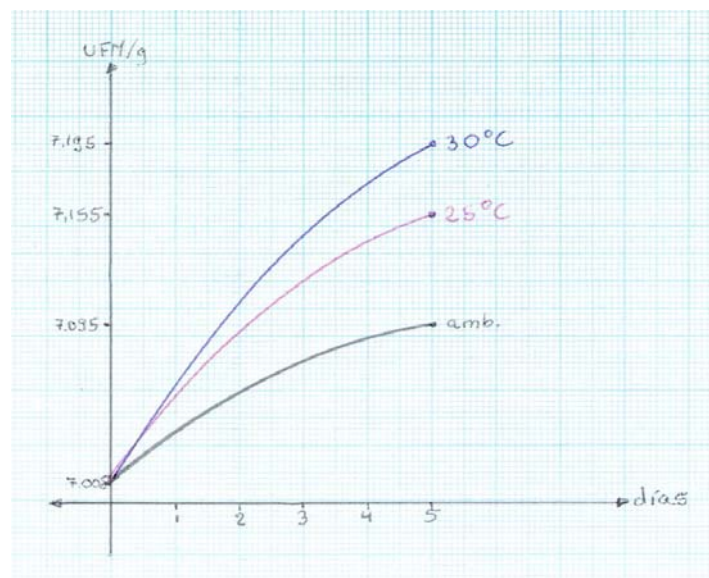
Luego de realizado el ADEVA se observa significación estadística para el Factor B (temperatura) por lo que se procedió a realizar la prueba de significación DMS, los tratamientos, el factor A y la interacción A x B no tienen significación estadística, por lo que los tratamientos son iguales. El CV es de 0,748% por lo que se lo considera bajo.

Cuadro #4 Prueba DMS para factor B (temperatura)

Factores	Medias	Rangos
B3	21,466	a
B2	21,385	b
B1	21,227	c

Al realizar la prueba DMS para el factor B se observa que el mejor nivel es el B3 (30°C)

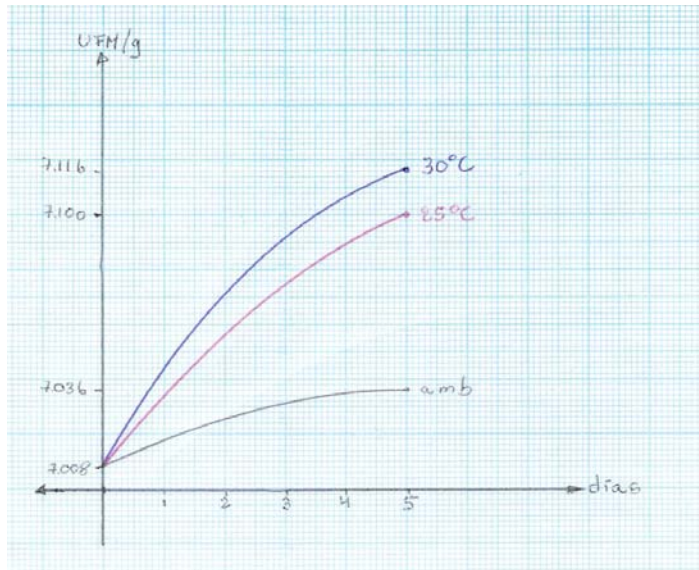
Gráfico #2 Curva de crecimiento en Residuos de papa a los 5 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.03UFM/g

Al observar el gráfico se puede determinar que el tratamiento que mejor responde al crecimiento de hongos en residuos de papa a los cinco días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

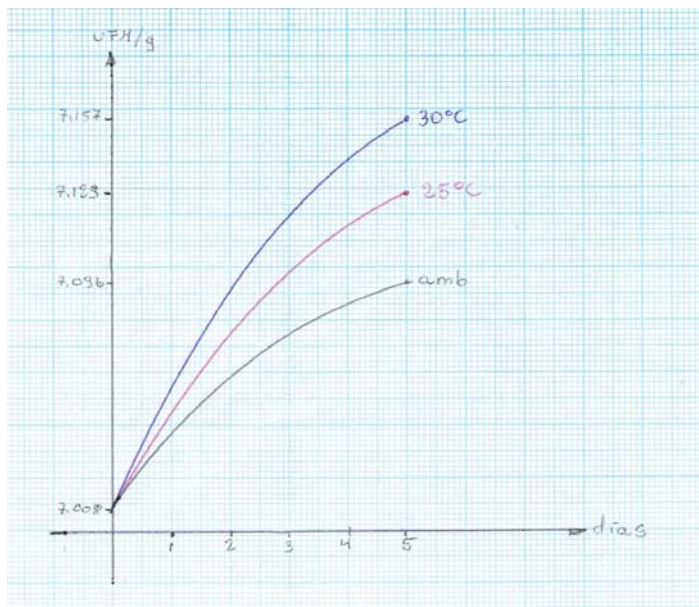
Gráfico #3 Curva de crecimiento en Tamo de fréjol a los 5 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.02UFM/g

Al analizar el gráfico se puede establecer que el tratamiento que mejor crecimiento de hongos en tamo de fréjol a los cinco días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

Gráfico #4 Curva de crecimiento en Bagazo de caña a los 5 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.02UFM/g

Al comparar las curvas se puede establecer que el tratamiento que mejor crecimiento de hongos en bagazo de caña a los cinco días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

Cuadro # 5 Recuento total de UFM/g día 10

Tratamientos	I	II	III	Σ Tratamientos	Medias
A1B1	7,158	7,149	7,168	21,475	7,158
A1B2	7,294	7,236	7,164	21,694	7,231
A1B3	7,287	7,166	7,285	21,738	7,246
A2B1	7,052	7,118	7,091	21,261	7,087
A2B2	7,141	7,261	7,134	21,536	7,179
A2B3	7,180	7,193	7,202	21,575	7,192
A3B1	7,128	7,184	7,180	21,492	7,164
A3B2	7,163	7,236	7,175	21,574	7,191
A3B3	7,236	7,259	7,270	21,765	7,255
Σ Repeticiones	64,639	64,801	64,668	194,108	64,703

Cuadro # 6 Análisis de varianza

ADEVA

F DE V	GL	SC	CM	FC	0,05	0,01
TOTAL	26	0,101				
TRAT.	8	0,064	0,008	3,971 **	2,59	3,89
F.A	2	0,019	0,009	4,595 *	3,63	6,23
F.B	2	0,042	0,021	10,295 **	3,63	6,23
F A X B	4	0,004	0,001	0,497 NS	3,11	5,04
E. EXP.	18	0,037	0,002			

CV= 0,627 %

Luego de realizado el ADEVA se observa que existe alta significación estadística para los tratamientos como para el factor B (temperatura), mientras el factor A (tipo de sustrato) tiene significación estadística, por lo que se procedió a realizar la prueba de TUKEY para tratamientos y la prueba de DMS para factores, la interacción A x B no tiene significación estadística. El CV es de 0,627 % por lo que se lo considera bajo.

Cuadro #7 Prueba de TUKEY para tratamientos

Tratamientos	Medias	Rangos
A3B3	7,255	a
A1B3	7,246	a
A1B2	7,231	a
A2B3	7,192	b
A3B2	7,191	b
A2B2	7,179	b
A3B1	7,164	b
A1B1	7,158	b
A2B1	7,087	c

Al realizar la prueba de TUKEY se observa tres rangos, donde los mejores niveles son A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C, A1B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 30°C y el nivel A1B2 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 25°C.

Cuadro # 8 Prueba DMS para factor A (tipo de sustrato)

Factores	Medias	Rangos
A3	21,635	a
A1	21,610	a
A2	21,457	b

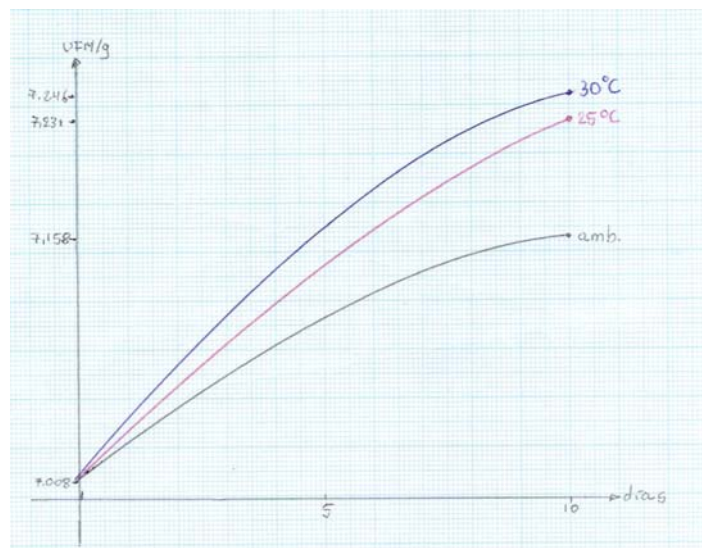
Al realizar la prueba DMS para el factor A se observa que los mejores niveles son el A3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña, el A1 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa.

Cuadro # 9 Prueba DMS para factor B (temperatura)

Factores	Medias	Rangos
B3	21,692	a
B2	21,601	b
B1	21,409	c

Al realizar la prueba DMS para el factor B se observa que existen tres rangos, siendo el mejor nivel el B3 (30°C)

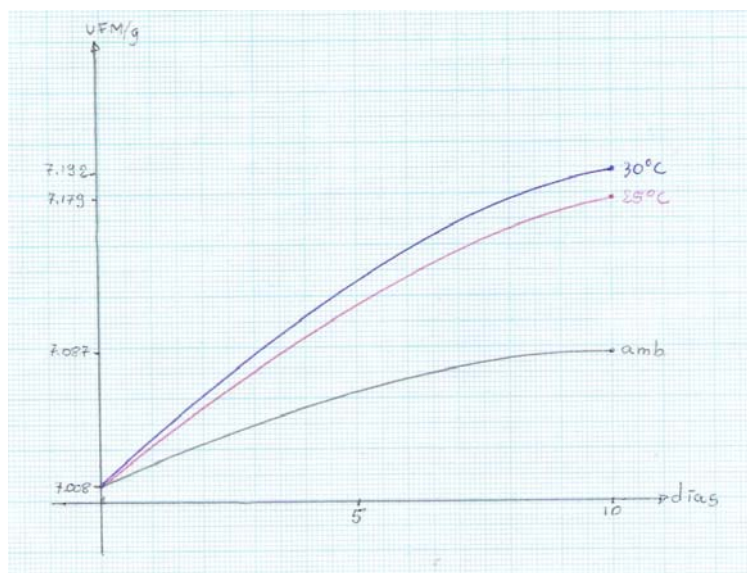
Gráfico #5 Curva de crecimiento en Residuos de papa a los 10 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.03UFM/g

Al observar las curvas se puede establecer que el tratamiento que mejor crecimiento de hongos en residuos de papa a los diez días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

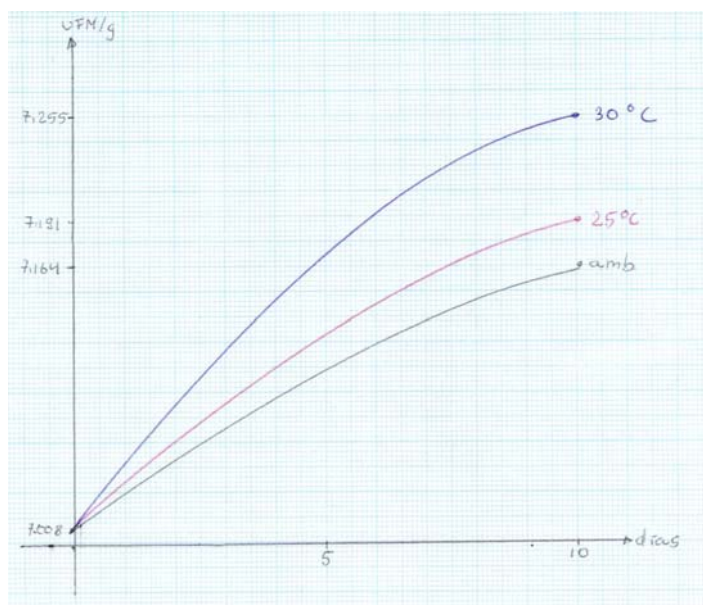
Gráfico #6 Curva de crecimiento en Tamo de fréjol a los 10 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.03UFM/g

Al analizar el grafico se puede determinar que el tratamiento que mejor crecimiento de hongos en tamo de fréjol a los diez días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

Gráfico #7 Curva de crecimiento en Bagazo de caña a los 10 días



Escala
H: 1cm=1 día
V: 1cm= 0.03UFM/g

Al estudiar el gráfico se puede determinar que el tratamiento que mejor crecimiento de hongos en bagazo de caña a los diez días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C.

Cuadro # 10 Recuento total de UFM/g día 15

Tratamientos	I	II	II	Σ Tratamientos	Medias
A1B1	7,189	7,200	7,206	21,595	7,198
A1B2	7,301	7,298	7,177	21,776	7,259
A1B3	7,315	7,202	7,330	21,846	7,282
A2B1	7,126	7,195	7,166	21,487	7,162
A2B2	7,215	7,296	7,204	21,715	7,238
A2B3	7,227	7,249	7,255	21,732	7,244
A3B1	7,166	7,259	7,223	21,648	7,216
A3B2	7,231	7,265	7,225	21,722	7,241
A3B3	7,347	7,347	7,364	22,058	7,353
Σ Repeticiones	65,117	65,311	65,151	195,579	65,193

Cuadro # 11 Análisis de varianza

ADEVA

F DE V	GL	SC	CM	FC	0,05	0,01
TOTAL	26	0,103				
TRAT.	8	0,069	0,009	4,680 **	2,59	3,89
F.A	2	0,014	0,007	3,691 *	3,63	6,23
F.B	2	0,046	0,023	12,367 **	3,63	6,23
F A X B	4	0,010	0,002	1,330 NS	3,11	5,04
E. EXP.	18	0,033	0,002			

CV=0,594%

Luego de realizado el ADEVA se observa que los tratamientos y el factor B (temperatura) tienen alta significación estadística, el factor A (tipo de sustrato) tiene significación estadística, por lo que se procedió a realizar la prueba de TUKEY para tratamientos y la prueba DMS para factores, la interacción A x B no tienen significación estadística. El CV es de 0,594% por lo que se lo considera bajo.

Cuadro #12 Prueba de TUKEY para tratamientos

Tratamientos	Medias	Rangos
A3B3	7,353	a
A1B3	7,282	a
A1B2	7,259	a
A2B3	7,244	b
A3B2	7,241	b
A2B2	7,238	b
A3B1	7,216	b
A1B1	7,198	b
A2B1	7,162	c

Al realizar la prueba de TUKEY se observa tres rangos, donde los mejores niveles son A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C, A1B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 30°C y el nivel A1B2 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 25°C.

Cuadro # 13 Prueba DMS para factor A (tipo de sustrato)

Factores	Medias	Rangos
A3	21,809	a
A1	21,739	b
A2	21,645	c

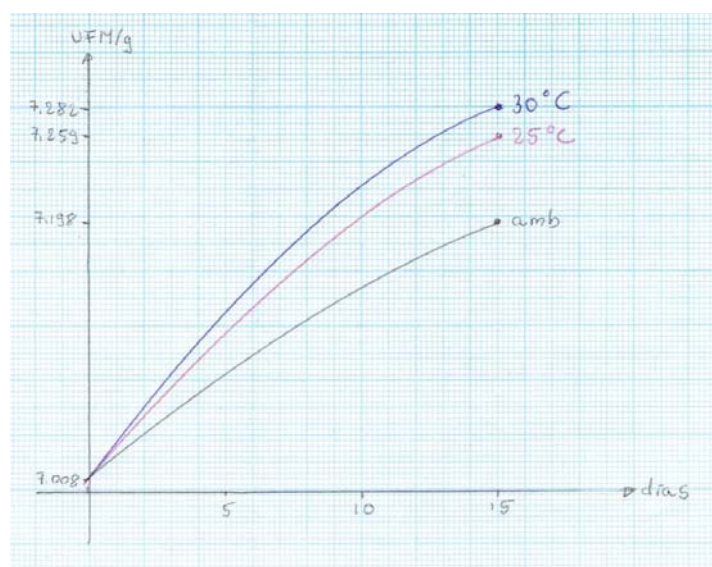
Al realizar la prueba DMS para el factor A se observa que el mejor nivel es el A3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña.

Cuadro # 14 Prueba DMS para factor B (temperatura)

Factores	Medias	Rangos
B3	21,879	a
B2	21,738	b
B1	21,576	c

Al realizar la prueba DMS para el factor B podemos observar que existen tres rangos, siendo el mejor nivel el B3 (30°C)

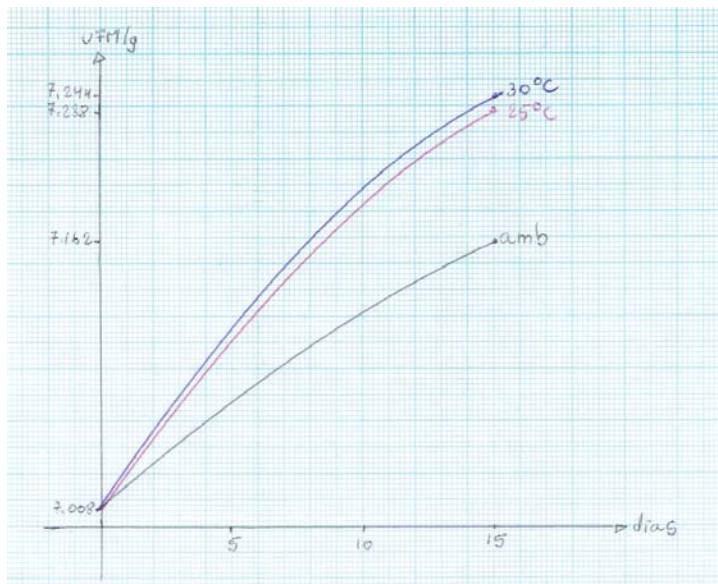
Gráfico #8 Curva de crecimiento en Residuos de papa a los 15 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.04UFM/g

Al estudiar el gráfico se puede determinar que el tratamiento que mayor crecimiento de hongos en residuos de papa a los quince días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C con una leve diferencia con relación al tratamiento a 25°C.

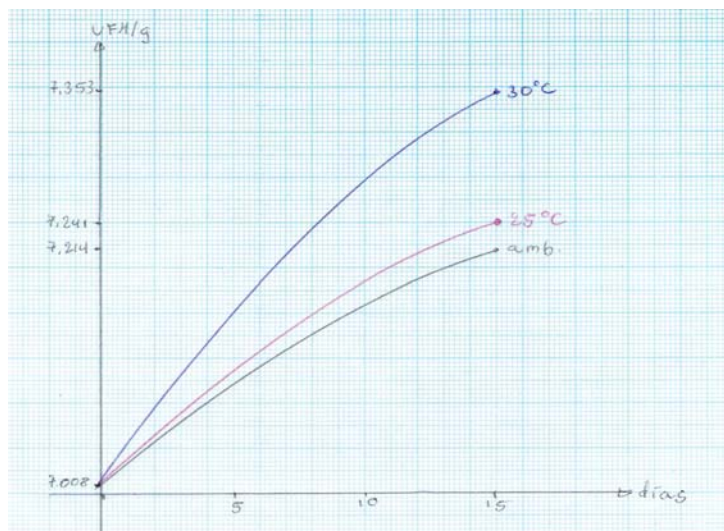
Gráfico #9 Curva de crecimiento en Tamo de fréjol a los 15 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.03UFM/g

Al analizar el gráfico se puede determinar que el tratamiento que mayor crecimiento de hongos en tamo de fréjol a los quince días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C con una leve diferencia con relación al tratamiento a 25°C.

Gráfico #10 Curva de crecimiento en Bagazo de caña a los 15 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.04UFM/g

Al analizar el gráfico se puede establecer que el tratamiento que mayor crecimiento de hongos en tamo de fréjol a los quince días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C

Cuadro # 15 Recuento total de UFM/g día 20

Tratamientos	I	II	III	Σ Tratamientos	Media
A1B1	7,213	7,240	7,246	21,698	7,233
A1B2	7,370	7,318	7,193	21,881	7,294
A1B3	7,336	7,306	7,377	22,020	7,340
A2B1	7,191	7,290	7,281	21,763	7,254
A2B2	7,320	7,336	7,316	21,972	7,324
A2B3	7,336	7,347	7,355	22,038	7,346
A3B1	7,278	7,320	7,310	21,907	7,302
A3B2	7,333	7,344	7,352	22,029	7,343
A3B3	7,389	7,418	7,443	22,250	7,417
Σ Repeticiones	65,765	65,919	65,874	197,557	65,852

Cuadro # 16 Análisis de varianza**ADEVA**

F DE V	GL	SC	CM	FC	0,05	0,01
TOTAL	26	0,100				
TRAT.	8	0,071	0,009	5,587 **	2,59	3,89
F.A	2	0,020	0,010	6,318 **	3,63	6,23
F.B	2	0,049	0,025	15,384 **	3,63	6,23
F A X B	4	0,002	0,001	0,322 NS	3,11	5,04
E. EXP.	18	0,029	0,002			

CV= 0,547%

Luego de realizado el ADEVA se observa alta significación estadística para tratamientos, factor A (tipo de sustrato) y factor B (temperatura), mientras que para la interacción A x B no existe significación estadística, por tal motivo se realizó la prueba de TUKEY para tratamientos y la prueba de DMS para factores. El CV es de 0,547% por lo que se lo considera bajo.

Cuadro #17 Prueba de TUKEY para tratamientos

Tratamientos	Medias	Rangos
A3B3	7,417	a
A2B3	7,346	a
A3B2	7,343	a
A1B3	7,340	a
A2B2	7,324	a
A3B1	7,302	b
A1B2	7,294	b
A2B1	7,254	b
A1B1	7,233	b

Al realizar la prueba de TUKEY se observa dos rangos, donde los mejores niveles son A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C, A2B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de tamo de fréjol a una temperatura de 30°C, A3B2 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 25°C, A1B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 30°C y el nivel A2B2 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de tamo de fréjol a una temperatura de 25°C.

Cuadro # 19 Prueba DMS para factor A (tipo de sustrato)

Factores	Medias	Rangos
A3	22,062	a
A2	21,924	b
A1	21,866	b

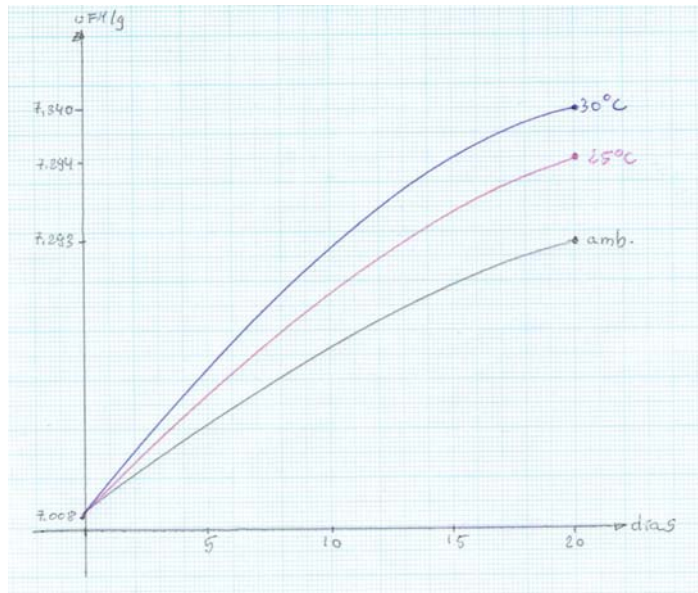
Al realizar la prueba DMS para el factor A se observa que el mejor nivel es el A3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña.

Cuadro # 20 Prueba DMS para factor B (temperatura)

Factores	Medias	Rangos
B3	22,103	a
B2	21,961	b
B1	21,789	c

Al realizar la prueba DMS para el factor B podemos observar que el mejor nivel es el B3 (30°C)

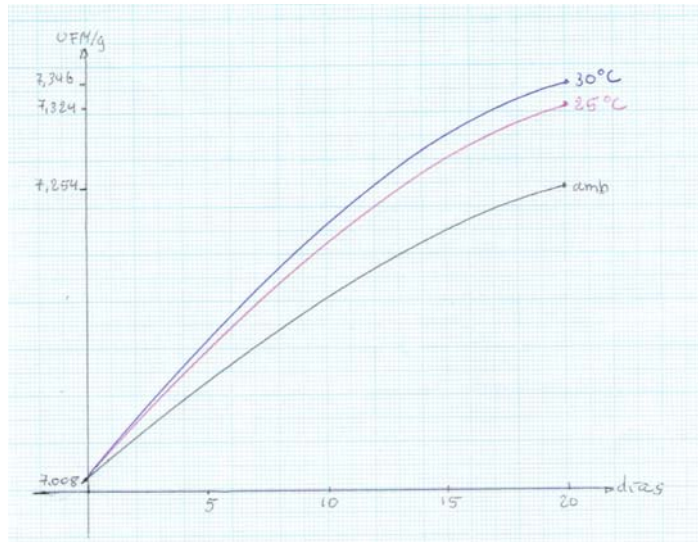
Gráfico #11 Curva de crecimiento en Residuos de papa a los 20 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.04UFM/g

Al analizar el gráfico se puede establecer que el tratamiento que mayor crecimiento de hongos en residuos de papa a los veinte días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C pero sin existir una diferencia significativa con respecto a los otros parámetros de temperatura.

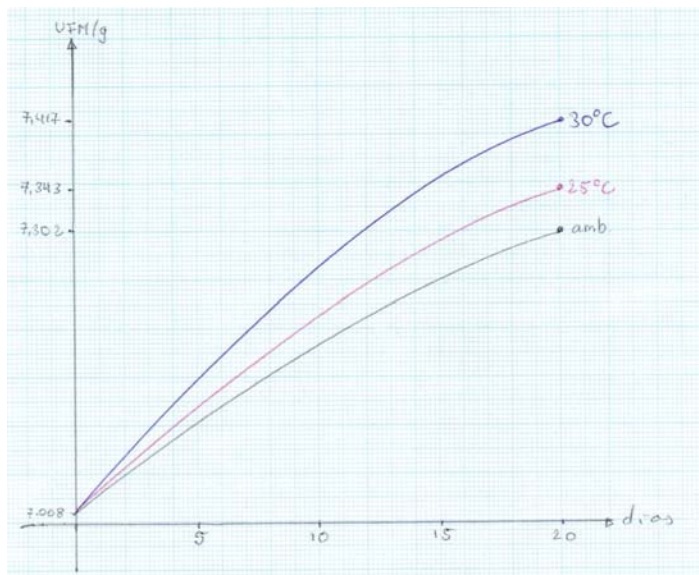
Gráfico #12 Curva de crecimiento en Tamo de fréjol a los 20 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.04UFM/g

Al observar el gráfico se puede establecer que los tratamientos que mayor crecimiento de hongos en tamo de fréjol a los veinte días de inoculada la cepa son los tratamientos que estuvieron a una temperatura de 30°C y 25°C.

Gráfico #13 Curva de crecimiento en Bagazo de caña a los 20 días



Escala
H: 1cm=2 día
V: 1cm= 0.05UFM/g

Al observar el gráfico se puede establecer que el tratamiento que mayor crecimiento de hongos en bagazo de caña a los veinte días de inoculada la cepa es el tratamiento que estuvo a una temperatura de 30°C .

4.4 Efectividad del hongo como fungicida

Luego de realizar una prueba en el laboratorio la cual consistió en sembrar cepas del hongo *Trichoderma harzianum* y del hongo *Fusarium* en cajas petri por separado con Agar Rosa Bengala, para luego tomar una muestra de cada uno y sembrar los dos hongos en una misma caja. Luego de transcurrido cuarenta y ocho horas se comprobó la efectividad del *Trichoderma harzianum* ya que el *Fusarium* se desarrollo en menor proporción.

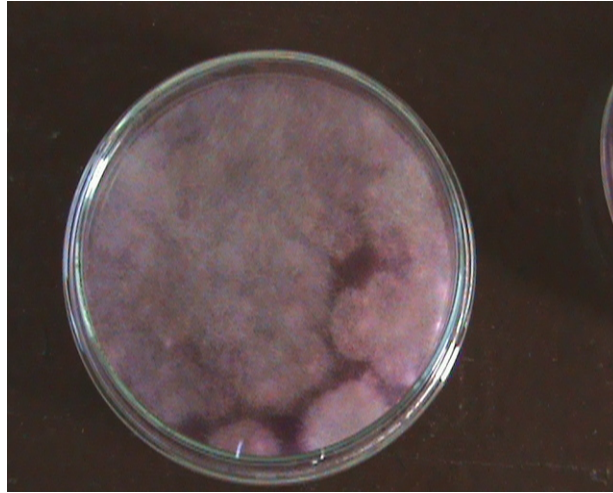


Foto #1 crecimiento de hongo patógeno *Fusarium*

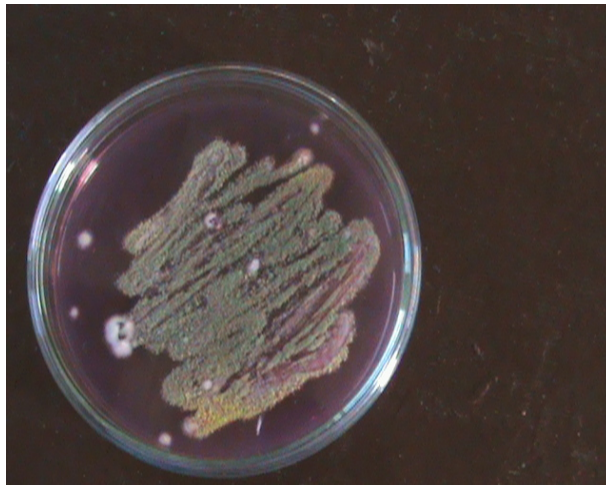


Foto #2 crecimiento de hongo *Trichoderma harzianum*



Foto #3 comprobación de efectividad de hongo *Trichoderma harzianum*

Una vez obtenidos los resultados de la fase experimental y haber analizado se puede decir:

Que los tratamientos que mejor responden al desarrollo del hongo *Trichoderma harzianum* son el A3B3 que corresponde a 12.5 % arrozillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C y el A1B3 que corresponde a 12.5 % arrozillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de residuos de papa a una temperatura de 30°C, esto debido a que contienen mayor cantidad de nutrientes necesarios para el desarrollo del hongo, con respecto al tamo de fréjol donde no existió un buen crecimiento del hongo esto debido a que es un desecho agroindustrial con un bajo porcentaje de nutrientes.

En la prueba de efectividad se pudo comprobar la capacidad fungicida del hongo al no permitir el desarrollo del hongo *Fusarium* comprobándose lo expuesto por ALVAREZ, H. donde hace referencia a lo siguiente: a nivel de laboratorio, el hongo *Trichoderma* es capaz de anular gran cantidad de hongos patógenos aéreos como *Botrytis*. De hecho, si se coloca en un cultivo de laboratorio *Trichoderma* antes que *Botrytis*, este último hongo no es capaz de desarrollarse.

CAPITULO

V

CONCLUSIONES

Luego de realizada la fase experimental del proyecto y obtenidos los resultados antes expuestos se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Al analizar las pruebas de significación estadística de TUKEY se concluye que el hongo *Trichoderma harzianum* se reproduce de mejor manera en residuos de papa y en bagazo de caña, ya que se observa que durante todo el proceso de incubación existen un excelente desarrollo por lo que se obtiene los mejores rendimientos.
- Al comparar las curvas de crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en los diferentes sustratos (residuos de papa, tamo de fréjol, bagazo de caña) a las diferentes temperaturas, se puede concluir que la temperatura óptima para el desarrollo de este hongo es a 30° C.
- En las curvas de crecimiento de cada una de los tratamientos se observa que el hongo en ninguna curva llega a la fase estacionaria, por lo que se concluye que el hongo sigue el proceso de desarrollo por más tiempo.
- El tratamiento que mas se aproxima al parámetro utilizado por el Instituto de Investigación Cubano que es de 2.5×10^9 UFM/ g, es el tratamiento A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C, con un rendimiento de 2.61×10^7 UFM/ g
- El mayor porcentaje de rendimiento del hongo *Trichoderma harzianum* se obtiene en el tratamiento A3B3 que corresponde a 12.5 % arrocillo, 12.5% de cascarilla de arroz, 75% de bagazo de caña a una temperatura de 30°C con un porcentaje de rendimiento de 78.918%.

- Mediante la prueba de efectividad realizada en el laboratorio se pudo verificar las propiedades biofungicidas del *Trichoderma harzianum* al inhibir el desarrollo del hongo patógeno *Fusarium*.
- Durante el transcurso del desarrollo del *Trichoderma harzianum* se observó que no tiene un adecuado crecimiento en el tamo de fréjol debido a que se obtiene un bajo porcentaje de rendimiento.
- Cuando se realizó un movimiento de agitación en los frascos con sustrato se observó que el hongo obtuvo mejor desarrollo, logrando llegar al parámetro establecido y en algunos casos superarlo.

RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda continuar con el desarrollo del hongo *Trichoderma harzianum* por mas de veinte días hasta llegar a un valor constante de UFM/g ya que de esta manera se puede determinar la fase estacionaria de la curva de crecimiento y así verificar el máximo rendimiento en la reproducción del hongo.
- ❖ Investigar sobre un método de agitación adecuado del sustrato a nivel industrial.
- ❖ Realizar pruebas de efectividad en el campo para comprobar las ventajas de la aplicación de este hongo en diferentes cultivos.
- ❖ Para la reproducción de este hongo se recomienda utilizar bagazo de caña debido a que en este sustrato el hongo prolifera de mejor manera obteniéndose mayor cantidad de UFM, esto debido a que tiene una gran cantidad de nutrientes necesarios para la reproducción del hongo.
- ❖ Para futuras investigaciones se recomienda tener un mejor control de la humedad y la aireación ya que estos factores afectan directamente en el desarrollo del hongo.

RESUMEN

En la actualidad se esta dando mucha importancia a la agricultura orgánica cuyo objetivo fundamental es encontrar diversos métodos para lograr que los alimentos crezcan en armonía con la naturaleza.

Por tal motivo la aplicación de nuevas técnicas en el cultivo de alimentos y la implementación de insumos de origen orgánico ha permitido el desarrollo de alimentos sanos libres de productos tóxicos y sin residuos de sustancias químicas.

Existe un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos y esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos vegetales. Entre los microorganismos mas importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Fusarium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los generos *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo.

El efecto principal de *Trichoderma* es por hiperparasitismo, aunque algunas especies y cepas pueden producir metabolitos bioactivos que incrementan su acción. Además algunos aislamientos controlan nematodos. En el mundo biológico existe una interacción continua entre los patógenos potenciales y sus antagonistas, de forma tal que estos últimos contribuyen a que en la mayoría de los casos no se desarrolle la enfermedad. En condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas.

La aplicación del hongo *Trichoderma harzianum* en diferentes cultivos a permitido el control de varias enfermedades producidas por hongos patógenos como el *Botritis*, *Fusarium*, entre otros. Por este motivo la importancia de esta investigación para determinar en que tipo de residuo agroindustrial crece de mejor manera el hongo y con esto obtener mejores resultados al momento de su reproducción aumentando el rendimiento, lo que representa un mayor numero de

UFM/g, lo que permite que en su aplicación al suelo exista mayor cantidad de cepas para un mejor control de los hongos patógenos.

El bagazo de caña debido a su gran contenido de nutrientes permite que el hongo *Trichoderma harzianum* se desarrolle mejor y tenga un porcentaje mayor de rendimiento con relación a los otros residuos agroindustriales analizados, siendo el medio de reproducción mas adecuado para este hongo antagonista juntamente con una temperatura optima de 30°C.

Con respecto a la prueba de efectividad se puede acotar que efectivamente el hongo *Trichoderma harzianum* es un biofungicida que inhibe el desarrollo de hongos fitopatógenos como es el caso del *Fusarium*, esto debido a sus propiedades antibióticas y enzimáticas. El mecanismo de competencia que posee *Trichoderma* se considera esencial para la prevención de enfermedades, pues la zona colonizada no podrá ser ocupada por ningún patógeno.

SUMMARY

Nowadays the organic cultural is more important than before whose the main objective is to find several methods to achieve that food grow in harmony with nature.

For this reason the application of new technique in the food cultivation and the implementation of organic products that have allowed the development of healthy food, free of toxic products without residues of chemical substances.

This is an important group of mushrooms and bacterium that presents adversary effects with other micro-organisms and this action could be profit as biological control way of vegetable pathologists. The most important micro-organisms are the sort of bacterium *Fusarium*, *pseudomonas* and *bacillus*, also the sort of mushrooms *Gliocladium* and *Trichoderma* is used a lot to control an important group of pathologists.

The principal effect of *Trichoderma* is the hiper-parasitical, even some species and stumps can produce bioactive metabolites that increase their action. Besides some isolations control.

In the biological world there is a continue interaction between potential pathologists and their antagonists, in order the last mentioned contribute to the majority of cases, the sickness does not develop. In natural conditions the micro-organisms are in a dynamic balance in the surface of plants.

The application of *Trichoderma Harzianum* mushroom in different cultivation has allowed to control many sickness produced by pathologists mushroom like the *Botrytis*, *Fusarium*, among others. For this reason this research is important to determine in what kind of industrial residue grows in a better form the mushroom and so we could get better results in its reproduction increasing the profit, this

represents a great number of UFM/g, this allows that exist more stumps in the application of ground to a better control of pathologists mushroom.

The waste pulp that has a great number of nourishment allows that the *Trichoderma Harzianum* mushroom develops in a better way and it gets a great percentage in the profit.

In relation with other industrial residues analyzed before, this is a suitable reproduction mean to this mushroom with an optimum temperature of 30 grades.

In reference to the proof, we can say that effectively the *Trichoderma Harzianum* mushroom that inhibit the develop of pathologists mushroom like Fusarium, since contains antibiotic properties.

The Trichoderma is essential to prevent sickness, since the colonized zone could not be occupied by any pathologists.

BIBLIOGRAFIA

1. www.fao.org/DOCREP/005/Y4137S/y4137s0o.htm 30 de septiembre del 2008
2. www.phcmexico.com.mx/phcevolucion.html 28 de septiembre del 2008
3. www.teorema.com.mx/articulos.php?id_sec=45&id_art=1340&id_ejemplar=67
30 de septiembre del 2008
4. <http://productos-plantisana.com/Trichoderma.aspx> 30 de septiembre del 2008
5. www.iabiotec.com/trichod_ficha.htm 30 de septiembre del 2008
6. www.fao-sict.un.hn/practicas/002_produccion_trichoderma.htm
30 de septiembre del 2008
7. www.iabiotec.com/respuestas.htm 4 de octubre del 2008
8. www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,66,0,0,1,0 4 de octubre del 2008
9. www.infoagro.go.cr/organico/7.Conceptos_agroecologia.htm 4 de octubre del 2008
10. www.revfacagronluz.org.ve/v16_5/v165z006.html 15 de octubre de 2008
11. www.perkinsltda.com.co/Trichoderma.html 15 de octubre de 2008
12. www.infoagro.com/hortalizas/microorganismos_beneficiosos_cultivos.htm 15 de octubre de 2008
13. <http://foroarchive.infojardin.com/orquidea/t-39804.html> 15 de octubre de 2008

14. <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/patata-patatas-papa-papas.htm>
20 de octubre
15. <http://es.wikipedia.org/wiki/Patata> 20 de octubre
16. <http://html.rincondelvago.com/cana-de-azucar.html> 25 de octubre
17. www.sica.gov.ec/cadenas/azucar/docs/azucar_ec_90-98.htm 25 de octubre
18. http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/what-organic_es 25 de octubre
19. ALVAREZ, Horsas. Eficiencia de cepas Trichoderma en el control de Phytophthora y Rhizoctonia
20. BENZING, Albrecht (2001), Agricultura orgánica fundamentos para la Región Andina, Alemania
21. BUENO, O. (2002), Evaluación de Trichoderma spp como agente de biocontrol de Fusarium spp en clavel, San Cristóbal Venezuela.
22. CAMAREN (2007), Seminario taller de principios de la agricultura orgánica, Otavalo Ecuador.
23. Enciclopedia practica de la agricultura y la ganadería, Océano, España
24. MARTIN José Roberto, La caña de azúcar en Cuba, Editorial Científico – Técnica, La Habana Cuba
25. PORTA, A. (1955) fabricación de azúcar, SALVAT EDITORES, Barcelona España

24. SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROPECUARIA DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA DEL ECUADOR (2001), La producción orgánica de cultivos en el Ecuador, Quito Ecuador
25. STEFANOVA, M. y I. Sandoval. (1995), Efectividad de *Trichoderma spp* en el control de hongos fitopatógenos del suelo. Boletín Técnico 2
26. STEFANOVA M., LEIVA A., LARRINAGA L., CORONADO M. F.1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma spp* para el control de hongos fitopatógenos del suelo.
27. STEFANOVA, M.1995.Producción de metabolitos por cepas de *Trichoderma spp*. Informe de investigación. Cuba, INISAV.
28. SUQUILANDA, Manuel (1996), Agricultura orgánica, Quito Ecuador
29. QUEZADA, Walter. (2000) Separatas de agroindustria azucarera, Universidad Técnica del Norte, Ibarra Ecuador
30. QUEZADA, Walter. (2008) Manual de industria azucarera, Universidad Técnica del Norte, Ibarra Ecuador
31. ROUSOSS, S. (1989). Obtención de biopreparados a partir de *Trichoderma harzianum*. Francia.
32. TERRANOVA EDITORES (2001), Agricultura ecológica, Colombia
33. TORRES, LA; WONG, W; FERNÁNDEZ, A; AMAT, Z. 2001. Actividad antagónica de especies de *Bacillus spp* contra *Rizhoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*.
34. VILLEGAS E, CASTAÑO, Jairo (2000) Identificación de aislamientos promisorios de *Trichoderma spp*. Para el manejo de la pudrición de la corona y raíz del manzano (*Malus domestica*, Borkh) en Caldas. Manizales: Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Fitotecnia

ANEXOS



Foto # 1 Crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en tamo de fréjol.



Foto # 2 Crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en residuos de papa.

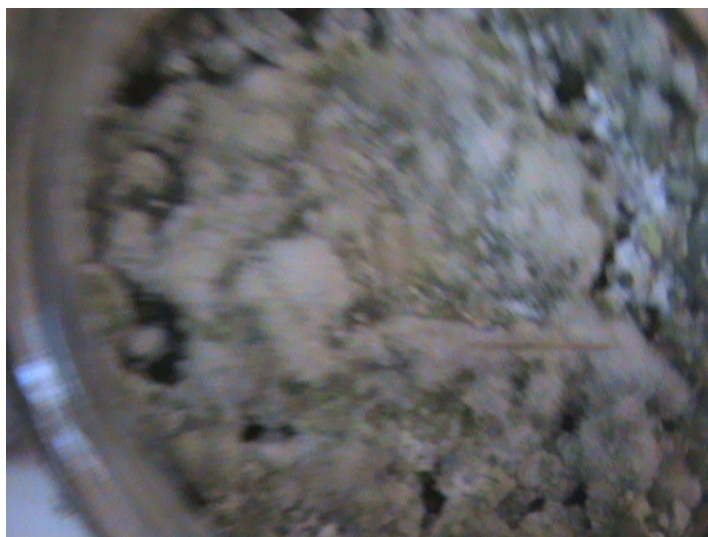


Foto # 3 Crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum*

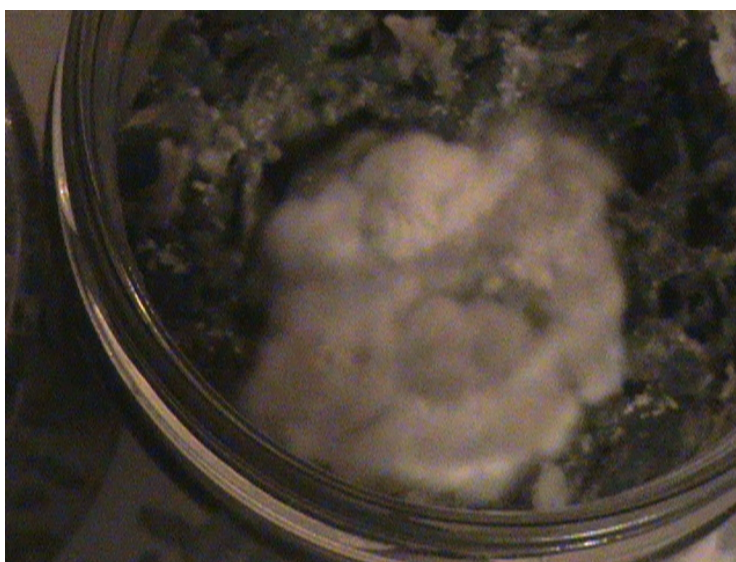


Foto # 4 Crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en bagazo de caña a los 15 días.



Foto # 5 Crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en bagazo de caña a los 20 días.



Foto #6 Ramas de rosas infectadas con *Fusarium*

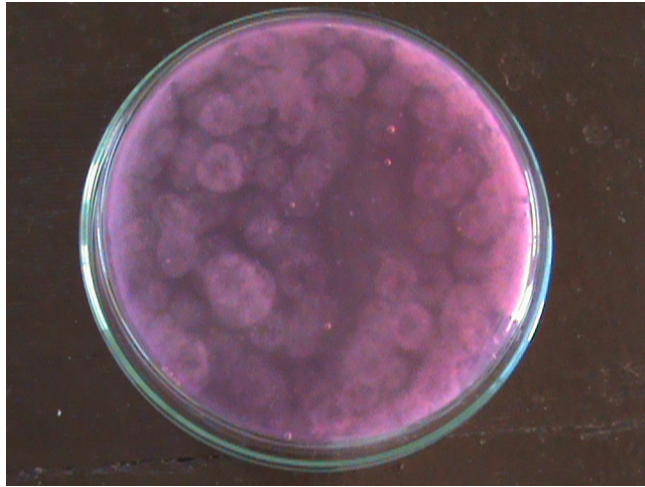


Foto #7 Hongo *Fusarium*



Foto # 8 Hongo *Trichoderma harzianum*